

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

E.A.P. DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA

**“RELACION DE LA RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA CON LA PRESENCIA DE
PLASMIDOS EN CEPAS DE *Acinetobacter baumannii*
AISLADAS DE PACIENTES INTERNADOS DEL
HOSPITAL NACIONAL GUILLERMO ALMENARA
IRIGOYEN- LIMA 2012”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga Microbióloga Parasitóloga

AUTOR

Myriam Del Carmen Garcia Rivera

ASESOR

Ruth García de la Guarda

Lima – Perú

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA

RELACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA CON LA
PRESENCIA DE PLÁSMIDOS EN CEPAS DE *Acinetobacter*
baumannii AISLADAS DE PACIENTES INTERNADOS DEL
HOSPITAL NACIONAL GUILLERMO ALMENARA IRIGOYEN-
LIMA 2012

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA
MICROBIÓLOGA PARASITÓLOGA

Bach. Myriam Del Carmen Garcia Rivera

Asesora: Mg. Ruth García de la Guarda

Lima – Perú

2015

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios mi fortaleza

*A mis padres Carmen Rivera y José Luis García por su apoyo y a Daniel Robles por su
paciencia y dedicación que no me permitieron decaer en los momentos difíciles.*

AGRADECIMIENTO

A Ruth García de la Guarda, asesora de esta tesis, por la oportunidad que me brindó para formarme como investigadora, por sus enseñanzas, paciencia y constante apoyo durante este proceso.

Un total agradecimiento a los miembros y compañeros del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, lugar donde realicé mi tesis. A los profesores Dr. Pablo Ramírez, Débora Alvarado, Susana Gutiérrez y Mónica Huamán. A mis colegas Silvia, Abraham, Carlos, Emma, Aida, Armando, y Gregory por su amistad, constante apoyo y colaboración.

A mis grandes amigos Carolina de Amat, Alejandro Patiño, Roció Gamarra, Fernando de la Cruz y Jaqueline Zarria, por su apoyo incondicional durante mi etapa de estudiante y diversión.

Al Doctor Rafael Ramírez Ponce, jefe del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, por su interés y accesibilidad para el desarrollo de esta tesis y al personal del servicio: Dr. Pereyra, Dr. Flores, Blga. Molina, Blgo. Díaz, Blgo. Quimper, Ricardo, Jair, Cecilia, Hugo, Margarita, Elsa, Betty y Carlos.

A mis padres que con su amor y esfuerzo me permitieron terminar mi pregrado y me apoyaron para continuar.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	33
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	34
4.1. Materiales	34
4.2. Métodos	35
4.2.1. Recolección de datos epidemiológicos	35
4.2.2. Recolección de cepas clínicas	36
4.2.3. Identificación de los aislamientos clínicos: métodos fenotípicos	36
4.2.3.1. Sistema Automatizado <i>Micro scan</i>	36
4.2.3.2. Sistema convencional	37
4.2.4. Criopreservación de las cepas	37
4.2.5. Sensibilidad antimicrobiana	37
4.2.6. Perfiles plasmídico	39
4.2.6.1. Extracción de plásmidos	39
4.2.6.2. Electroforesis de plásmidos	40
4.2.7. Curación de las cepas con bromuro de etidio (EtBr)	40
4.2.7.1. Determinación de la concentración de EtBr para la curación	40
4.2.7.2. Curación de las cepas	41

4.2.8.	Sensibilidad antimicrobiana post-curación	41
4.2.9.	Perfil plasmídico post-curación	41
4.2.9.1.	Extracción de plásmidos post-curación	41
4.2.9.2.	Electroforesis de plásmidos post-curación	41
4.2.10.	Análisis de datos epidemiológicos	42
V.	RESULTADOS	43
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	76
VII.	CONCLUSIONES	93
VIII.	RECOMENDACIONES	95
IX.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	97
X.	ANEXO	120

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 01	Especies del género <i>Acinetobacter</i> validadas 4
Tabla N° 02	Nombres provisionales (n=7) y Nombres de especies publicadas pero no validadas (n=10) 5
Tabla N° 03	Pruebas fenotípicas para la diferenciación de especie genómicas de <i>Acinetobacter</i> (Según Bouved y Grimont, 1986) 8
Tabla N° 04	Diferenciación fenotípica de especies del complejo <i>A. baumannii-calcoaceticus</i> . 8
Tabla N° 05	Mecanismos enzimáticos de resistencia a β -lactámicos en <i>A. baumannii</i> 15
Tabla N° 06	Mecanismos de resistencia de <i>A. baumannii</i> a antibióticos diferentes de los β -lactámicos 18
Tabla N° 07	Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana en Latinoamérica (1997-2010). 21
Tabla N° 08	Porcentaje de sensibilidad de <i>Acinetobacter</i> spp UCI – HNGAI (2004 -2006). 22
Tabla N° 09	Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de <i>A. baumannii</i> en HNGAI- (2009-2010) según servicio de hospitalización. 23
Tabla N° 10	(%) de Sensibilidad antimicrobiana de <i>A. baumannii</i> (2011) según el tipo de muestra – HNGAI. 23
Tabla N° 11	Frecuencia de <i>Acinetobacter</i> sp y <i>A. baumannii</i> en hospitales del Perú periodo 2004-2009. 28
Tabla N° 12	Prevalencia de <i>Acinetobacter</i> sp, según el tipo de muestra y servicio de hospitalización –HNGAI (1 Enero 2009 – 30 Junio 2010). 30
Tabla N° 13	Aislamientos de <i>Acinetobacter baumannii</i> de urocultivo según tipo de consultorio externo. 31
Tabla N° 14	Antibióticos de uso clínico para el tratamiento de infecciones por <i>A. baumannii</i> . 38
Tabla N° 15	Cepas aisladas de <i>Acinetobacter baumannii</i> del HNGAI. 44
Tabla N° 16	Halos de inhibición de crecimiento de <i>A. baumannii</i> mediante la Prueba de Disco Difusión 47
Tabla N° 17	Patrón de sensibilidad antimicrobiana de cepas de <i>A. baumannii</i> 49
Tabla N° 18	Susceptibilidad de las 40 cepas de <i>A. baumannii</i> a los 50

	antimicrobianos usados mediante la Prueba de Disco Difusión	
Tabla N° 19	Antibiotipos observados en cepas de <i>A. baumannii</i> (n: 40)	53
Tabla N° 20	Antibiotipos observados en cepas de <i>A. baumannii</i> aisladas de pacientes(n: 40) según el área de hospitalización	57
Tabla N° 21	Perfil plasmídico de cepas de <i>A. baumannii</i> (n=38)	59
Tabla N° 22	Perfiles plasmídicos y antibiotipos de las cepas de <i>A. baumannii</i> aisladas de los servicios de hospitalización	61
Tabla N° 23	Estandarización del porcentaje de bromuro de etidio (EtBr) para la curación de plásmidos de cepas de <i>A. baumannii</i>	62
Tabla N° 24	Perfil plasmídico de cepas <i>A. baumannii</i> curadas con EtBr (300 µg/ml)	66
Tabla N° 25	Prevalencia de microorganismos Gram negativos aislados en pacientes hospitalizados entre Enero-Diciembre del 2012 en el HNGAI	68
Tabla N° 26	Distribución de cepas de <i>A. baumannii</i> aisladas de diferentes servicios del HNGAI	69
Tabla N° 27	Distribución de los pacientes según edad y sexo con <i>A. baumannii</i> aisladas	72
Tabla N° 28	Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de <i>Acinetobacter baumannii</i>	73

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura Nº 01 Mecanismo de transmisión de <i>A. baumannii</i> en el área hospitalario.	13
Figura Nº 02 <i>Micro Scan</i> – Paneles positivos para <i>A. baumannii</i> .	45
Figura Nº 03 Cultivo de <i>A. baumannii</i> .	45
Figura Nº 04 Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>A. baumannii</i>	45
Figura Nº 05 Antibiograma de una cepa de <i>A. baumannii</i> (Acb7).	46
Figura Nº 06 Frecuencia de resistencia/sensibilidad de las cepas de <i>A. baumannii</i> a diferentes antibióticos.	51
Figura Nº 07 Frecuencia de antibiotipos de resistencia de <i>A. baumannii</i> presentes en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen-2012.	51
Figura Nº 08 Antibiotipos de resistencia de cepas de <i>A. baumannii</i> según el número de antimicrobianos.	54
Figura Nº 09 Antibiotipos de resistencia de cepas de <i>A. baumannii</i> encontrados en los servicios de hospitalización.	56
Figura Nº 10 Plásmidos de cepas de <i>A. baumannii</i> de origen clínico aisladas del HNGAI.	58
Figura Nº 11 Crecimiento de <i>A. baumannii</i> en Agar Nutricio, luego de la incubación por 24h a 37°C en diferentes concentraciones de EtBr.	62
Figura Nº 12 Antibiograma antes y después de la curación.	63
Figura Nº 13 Porcentaje de Sensibilidad antimicrobiana antes y después de la curación con EtBr (300 µg/ml).	64
Figura Nº 14 Plásmidos de cepas de <i>A. baumannii</i> de origen clínico después de la curación con EtBr.	65
Figura Nº 15 Frecuencia de <i>A. baumannii</i> por años en el HNGAI.	68
Figura Nº 16 Fuentes de origen de las cepas aisladas de <i>A. baumannii</i> .	70
Figura Nº 17 Distribución de las cepas de <i>A. baumannii</i> aisladas de pacientes hospitalizados según el sexo.	71
Figura Nº 18 Frecuencia de aislamiento de <i>A. baumannii</i> en pacientes según edad.	72
Figura Nº 19 Frecuencia de fallecidos a los que se aisló <i>A. baumannii</i> según el sexo y la edad.	74
Figura Nº 20 Aislamiento de <i>A. baumannii</i> según los meses del año.	75

RESUMEN

Acinetobacter baumannii es un cocobacilo aeróbico, Gram negativo y considerado un patógeno nosocomial emergente, que ha desarrollado resistencia a múltiples fármacos. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la resistencia antimicrobiana de cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de pacientes internados en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen y relacionarlo con la presencia de plásmidos, así como determinar la prevalencia de esta especie en dicho nosocomio según el servicio de hospitalización, tipo de muestra, edad, sexo y factores de comorbilidad, mortalidad y estacionalidad.

Se identificaron 40 cepas de *A. baumannii* de origen clínico aisladas de muestras de pacientes hospitalizados del nosocomio Guillermo Almenara Irigoyen durante enero-diciembre del 2012. Las cepas fueron identificadas mediante el sistema automatizado Micro Scan y el método convencional.

Se utilizó Agar MacConkey y Agar Leeds *Acinetobacter*, incubándose a 37 y 44°C respectivamente, en la coloración Gram se observaron cocobacilos Gram negativos, se hicieron pruebas bioquímicas como TSI, citrato y gelatina además de las pruebas de oxidasa y catalasa.

Se realizó la sensibilidad antimicrobiana a través del sistema automatizado Micro Scan y el método de difusión en disco.

El 100% de las cepas mostraron resistencia a cefalosporina de tercera generación, meropenem, imipenem, ciprofloxacino, ticar/Ac. clavulánico. El 93.5% fueron

resistentes a cefepime y sulfametoxazol-trimetoprim, el 95 % a levofloxacin, el 90% a amikacina, el 45% a gentamicina, el 37.5% a tobramicina y el 30% a tetraciclina.

Se registraron 12 antibiotipos de resistencia, con una mayor frecuencia en el servicio de Unidad de cuidados Intensivos.

Se determinó el perfil plasmídico de las cepas estudiadas, obteniendo 31 perfiles según el número y tamaño de las bandas, que oscila entre 1,240 - 55,459 pb aproximadamente; luego se relacionó con los patrones de resistencia y el origen de aislamiento de la cepa. Además se realizó la curación de las cepas con bromuro de etidio a una concentración del 300 µg/ml. Las cepas que perdieron la resistencia fueron interpretadas como portadoras de resistencia plasmídica a los determinados antibióticos. Además se determinó una prevalencia del 7.42% de total de bacterias gram negativas aisladas, presentando un mayor número de casos en los meses de verano e invierno, con una misma proporción para ambos sexos, la edad promedio de los pacientes infectados fue 62.314 ± 19.745 . *A.baumannii* se aisló principalmente de muestras respiratorias, seguida de hemocultivos y líquidos biológicos provenientes del servicio de UCI, Medicina Interna 1 y Cirugía General 5. Las infecciones se asociaron a pacientes con estados de inmunosupresión debido a procesos quirúrgicos y enfermedades base como cáncer, insuficiencia hepática crónica, insuficiencia renal y EPOC. La tasa de mortalidad asociada a la infección fue del 56.4%.

Palabras claves: *Acinetobacter baumannii*, infección intrahospitalaria, resistencia antimicrobiana, plásmidos, curación de plásmidos, prevalencia intrahospitalaria.

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii is an aerobic, Gram-negative coccobacillus and is considered an emerging nosocomial pathogen that has developed resistance to multiple drugs. The present study aimed to determine the antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients hospitalized in the Guillermo Almenara Irigoyen National Hospital and its relationship with the presence of plasmids, and determine the prevalence of this species in that hospital according to the inpatient service, sample type, age, sex and comorbidity, mortality and seasonality factors.

40 *A. baumannii* strains of clinical origin, isolated from samples of hospitalized patients at the Guillermo Almenara Irigoyen hospital during January and December 2012, were identified. Strains were identified by the MicroScan Automated System and by the conventional method.

MacConkey Agar and Leeds *Acinetobacter* Agar were used, incubating at 37 and 44°C, respectively. Gram-negative coccobacillus were observed in the Gram stain. Biochemical test including TSI, citrate and gelatin were performed, in addition to the oxidase and catalase tests.

Antimicrobial susceptibility testing was performed using the Micro Scan automated system and the disk diffusion method.

100% of the strains showed resistance to third-generation cephalosporin, meropenem, imipenem, ciprofloxacin, ticar / clavulanic acid. 93.5% were resistant to cefepime and trimethoprim-sulfamethoxazole, 95% to levofloxacin, 90% to amikacin, 45% to gentamicin, 37.5% to tobramycin and 30% to tetracycline.

12 resistance antibiotypes were recorded, with more frequency in the intensive care unit service.

The plasmid profile of the studied strains was determined, obtaining 31 profiles according to the number and size of the bands, which ranged from about 1,240–55,459 bp; these were then associated with the resistance patterns and the isolation origin of the strain. Furthermore, strain curing was performed with ethidium bromide at a concentration of 300 µg/ml. Strains that lost resistance were interpreted as strains carrying plasmidic resistance to certain antibiotics. Moreover, a prevalence of 7.42% of total isolated Gram-negative bacteria was determined, presenting a larger number of cases in the summer and winter, with the same proportion for both sexes; the average age of infected patients was 62.314 ± 19.745 . *A. baumannii* was mainly isolated from respiratory samples, followed by blood cultures and biological fluids samples from the UCI service, Internal Medicine 1 and General Surgery 5. The infections were associated to patients with immunosuppression state caused by surgical procedures and underlying diseases such as cancer, chronic liver failure, kidney failure and EPOC. The mortality rate associated with infection was 56.4%.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, nosocomial infection, antimicrobial resistance plasmids, plasmids healing, hospital prevalence.

I. INTRODUCCIÓN

En la década de los setentas, *A. baumannii* era considerada como una bacteria sensible a antibióticos de amplio espectro, pero a lo largo de los años y a través de los procesos de presión selectiva, éstas han desarrollado mecanismos de resistencia, existiendo en la actualidad cepas multirresistentes, extrarresistente y panresistentes (Gobernando, 2012).

La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) la considera como una de las principales bacterias adquiridas en los medios hospitalarios (OMS, 2012). La Organización Panamericana de la Salud (O.P.S.), en el informe anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos del 2010, ubica a esta bacteria dentro de las especies cuyos mecanismos de resistencia son preocupantes, desde el punto de vista de la salud pública, así pues forma parte de las especies que son objeto de vigilancia (O.P.S., 2010). A nivel nacional, el Instituto Nacional de Salud (I.N.S.) es el ente encargado de la evaluación del desempeño de 40 instituciones que pertenecen a esta red de vigilancia mundial, siendo así el organismo nacional que emite los datos finales del monitoreo de la resistencia de *A. baumannii*, que fue incluida desde el año 2002, como una de las principales bacterias de origen clínico.

El Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen pertenece a la Red de Vigilancia mencionada y los datos que obtiene a través de los monitoreos son enviados al I.N.S. Del año 2004 al 2006, la incidencia en *A. baumannii* aumento 50%, en pacientes internos con afecciones respiratorias (Paz *et al.*, 2008). Del 2009 al 2010 se evaluó la prevalencia y la susceptibilidad antibacteriana, llegando a la conclusión de que es un microorganismo altamente drogoresistente debido al incremento de la resistencia a cefalosporinas, aminoglucósidos, aztreonam y carbapenems, lo que representa un serio problema en el manejo terapéutico (Flores *et al.*, 2011).

La bacteria *A. baumannii* es un patógeno emergente y una de las principales causas de infecciones intrahospitalarias en el Perú y el mundo (Paz *et al.*, 2008), que dentro de un ambiente de hacinamiento hospitalario, son capaces de originar brotes clonales extensos y situaciones complejas en las que coexisten cepas esporádicas con cepas epidémicas (Fernández *et al.*, 2011).

Por lo señalado anteriormente, es necesario realizar investigaciones que contribuyan con un programa de vigilancia de microorganismos causantes de infecciones intrahospitalarias, así como el estudio de su perfil de resistencia y los mecanismos que están relacionados a la obtención de la capacidad multidrogorresistente, buscando establecer de esta forma un mejor control nosocomial y un tratamiento adecuado en los pacientes afectados.

En el Perú no hay estudios sobre la presencia de plásmidos de resistencia en aislados intrahospitalarios de *A. baumannii*. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de cepas de *A. baumannii* aisladas de pacientes internados en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen y relacionar la presencia de plásmidos que codifican dicha resistencia, así como determinar la prevalencia de esta especie en dicho nosocomio según el servicio de hospitalización, tipo de muestra, sexo, edad, comorbilidad y mortalidad.

Los resultados aportaron datos sobre la epidemiología de *Acinetobacter baumannii* sobre el mecanismo de resistencia, lo que contribuirá a la vigilancia de la resistencia antimicrobiana intrahospitalaria, y la mejora en el control de los brotes de infecciones nosocomiales.

II. MARCO TEÓRICO

1. Microbiología de *Acinetobacter baumannii*

1.1. Historia del microorganismo

La historia taxonómica del género *Acinetobacter* ha sido confusa, se revisó muchas veces su filogenia. El género fue descrito por primera vez por Beijerinck, un microbiólogo Holandés, en 1911. Él le dio la nominación taxonómica de *Micrococcus calcoaceticus*. Inicialmente se incluyó al género en la familia Neisseriaceae, posteriormente pasó a la familia Moraxellaceae, bajo los nombres específicos de *Bacterium anitratum*, *Moraxella glucidolytica*, *Moraxella iwoffii*, *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* y *Micrococcus calcoaceticus* (Giamarellou *et al.*, 2008). La asignación del género *Acinetobacter* propiamente dicho fue propuesto por Brisou y Prevot en 1954, diferenciándolo entre los microorganismos móviles y no móviles con el género *Achromobacter*, además asignaron dos especies: *Acinetobacter calcoaceticus* y *Acinetobacter iwoffii* (Peleg *et al.*, 2008).

Bouvet y Grimont (1986), basados en hibridación DNA-DNA y pruebas bioquímicas, diferenciaron 12 especies, entre las cuales está *Acinetobacter baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* y *A. iwoffii*, y las otras 6 quedaron innominadas (Bouvet y Grimont, 1986). En 1989, Bouvet y Jeanjean proponen otras cinco 5 especies (13-17), a su vez Tjernberg y Ursing encuentran 3 especies nuevas (Ibrahim *et al.*, 1997).

En los últimos años se han descrito nuevas especies de *Acinetobacter*, aisladas en humanos, lodos activados, suelo, productos crudos, plantas y nueve especies más aisladas de diferentes muestras, aumentando así a 39 especies con nombres validados (Tabla Nº 01), 7 especies genómicas con designaciones provisionales y 10 especies

con nombres que han sido publicadas pero no validadas (Tabla Nº 02) (Wisplinghoff y Seifert, 2014).

TABLA Nº 01: Especies del género *Acinetobacter* validadas(n=39)

ESPECIES		ORIGEN	REFERENCIA
<i>A. Apis</i> ^c		Intestino de abeja	Kim <i>et al.</i> , 2014
<i>A. baumannii</i>	2	Humano, animales	Bouvet & Grimont, 1986
<i>A. baylyi</i>		Suelo	Carr <i>et al.</i> , 2003; Vaneechoutte <i>et al.</i> , 2006
<i>A. berezinae</i>	10	Humano	Bouvet <i>et al.</i> , 1986a; Nemec <i>et al.</i> , 2010
<i>A. bohemicus</i>		Suelo, agua	Krizova <i>et al.</i> , 2014
<i>A. boissieri</i>		Néctar de flores	Alvarez-Perez <i>et al.</i> , 2013
<i>A. bouvetii</i> ^c		Lodo activado	Carr <i>et al.</i> , 2003
<i>A. brisouii</i> ^c		humedales	Anandham <i>et al.</i> 2010
<i>A. beijerinckii</i>		Humano, animales, Suelo, agua	Nemec <i>et al.</i> , 2009
<i>A. calcoaceticus</i>	1	suelo	Bouvet and Grimont, 1986
<i>A. gandensis</i>		Caballo, ganado, agua	Smet <i>et al.</i> , 2014
<i>A. gernerii</i> ^f		Lodo activado	Carr <i>et al.</i> , 2003
<i>A. grimontii</i> ^{c,d}	(= <i>A. junii</i>)	Lodo activado	Carr <i>et al.</i> , 2003; Vaneechoutte <i>et al.</i> , 2008
<i>A. guangdongensis</i> ^c		Mineral de plomo y zinc	Feng <i>et al.</i> , 2014a
<i>A. guillouiae</i>	11	Humano, suelo	Nemec <i>et al.</i> , 2010; Bouvet & Grimont 1986
<i>A. gyillenbergii</i>		Humano	Nemec <i>et al.</i> , 2009
<i>A. haemolyticus</i>	4	Humano	Bouvet & Grimont, 1986
<i>A. harbinensis</i> ^c		Agua dulce	Li <i>et al.</i> , 2014
<i>A. indicus</i> ^c		Botadero	Malhotra <i>et al.</i> , 2012
<i>A. iwoffii</i> ^a	8/9	Humano, animales	Bouvet & Grimont, 1986; Tjernberg & Ursing ,1989
<i>A. johnsonii</i>	7	Humano, animales	Bouvet & Grimont, 1986
<i>A. junii</i>	5	Humano	Bouvet & Grimont, 1986
<i>A. kookii</i>		Suelo	Choi <i>et al.</i> 2013
<i>A. nectaris</i>		Néctar de flores	Alvarez-Perez <i>et al.</i> , 2013
<i>A. nosocomialis</i>	13TU	Humano	Nemec <i>et al.</i> 2011; Tjernberg & Ursing ,1989
<i>A. pakistanensis</i> ^c		Agua residual	Abbas <i>et al.</i> , 2014
<i>A. parvus</i>		Humano, animales	Nemec <i>et al.</i> , 2003
<i>A. pittii</i>	3	Humano, suelo	Nemec <i>et al.</i> 2011; Bouvet & Grimont ,1986
<i>A. puyangensis</i>		Fitopatógena	Li <i>et al.</i> , 2013
<i>A. qingfengensis</i>		Fitopatógena	Li <i>et al.</i> , 2014
<i>A. rudis</i>		Leche cruda y agua residual	Vaz-Moreira <i>et al.</i> 2011
<i>A. radioresistens</i> ^b	12	Humano, suelo, algodón	Nishimura <i>et al.</i> 1988; Bouvet & Grimont, 1986
<i>A. schindleri</i>		Humano	Nemec <i>et al.</i> , 2001
<i>A. solii</i> ^f		Humano, suelo	Kim <i>et al.</i> , 2008
<i>A. tandoii</i> ^f		Lodo activado	Carr <i>et al.</i> , 2003
<i>A. tjernbergiae</i>		Lodo activado	Carr <i>et al.</i> , 2003
<i>A. townneri</i>		Lodo activado	Carr <i>et al.</i> , 2003
<i>A. ursingii</i>		Humano	Nemec <i>et al.</i> , 2001
" <i>A. venetianus</i> " ^b		Agua de mar	Vaneechoutte <i>et al.</i> , 2009; Di Cello <i>et al.</i> , 1997

Fuente: Wisplinghoff y Seifert, 2014. ^a*A. iwoffii* incluye grupos de ADN 8 / 9 descritas por Bouvet y Grimont (1986) / Tjernberg y Scuola (1989). ^b *A. radioresistens* corresponde a la especie 12 según Bouvet y Grimont (1986) como se muestra también por Tjernberg y Scuola (1989). ^c Descripción en base a una sola cepa identificada. ^d *A. grimontii* es sinónimo posterior de *A. junii*.

TABLA N° 02: Nombres provisionales (n=7) y Nombres de especies publicadas pero no validadas (n=10)

ESPECIE	ORIGEN	REFERENCIA
6	Humano	Bouvet & Grimont, 1986
13BJ, 14TU	Humano	Bouvet & Jeanjean, 1989, Tjernberg & Ursing, 1989
14BJ	Humano	Bouvet & Jeanjean, 1989
15BJ	Humano	Bouvet & Jeanjean, 1989
16	Humano, vegetales	Bouvet & Jeanjean, 1989
17	Humano, suelo	Bouvet & Jeanjean, 1989
Between 1 and 3	Humano	Gerner-Smidt & Tjernberg, 1993
'A. antiviralis' ^c	Mar	Lee <i>et al.</i> , 2009
A. kyonggiensis' ^c	Aguas residuales	Lee & Lee, 2010
'A. marinus' ^c	Mar	Yoon <i>et al.</i> , 2007
'A. oleivorans' ^c	Cascara de arroz	Kang <i>et al.</i> , 2011
'A. oryzae' ^c	Arroz	Chaudhary <i>et al.</i> , 2012
'A. refrigerantis' ^c	Refrigerador	Feng <i>et al.</i> , 2014b
A. seifertii' ^c	Humano	Nemec <i>et al.</i> , 2015
'A. seohaensis' ^c	Mar	Yoon <i>et al.</i> , 2007
A. variabilis' ^c	Humano, animales	Krizova <i>et al.</i> , 2015
A. septicus' ^c	"A. ursingii"	Kilic <i>et al.</i> , 2007, Nemec <i>et al.</i> , 2008

Fuente: Wisplinghoff y Seifert, 2014. ^c Descripción en base a una sola cepa identificada. ^e Las diferentes especies designadas por los mismos números se distinguen por las iniciales de sus autores. ^f La cepa A. septicus 'se demostró que pertenecía a A. ursingii descrita anteriormente por Nemec en el 2008.

1.2. Identificación de la especie

Los aislamientos de *Acinetobacter* se pueden identificar en la tinción de Gram como cocobacilos o a veces bacilos cortos gram negativos, por el aspecto de la colonia en los diferentes medios de cultivo, por ser oxidasa negativos y catalasa positivos, por su inmovilidad, por no fermentar la glucosa (un gran porcentaje de aislamientos) y no formar esporas (Montefour *et al.*, 2008).

Las colonias de A. baumannii se asemejan a las de la familia Enterobacteriaceae, con un diámetro 1,5 a 3 mm, mientras la mayoría de las otras especies del género producen colonias más pequeñas y translúcidas (Peleg, *et al.* 2008). A diferencia de las Enterobacteriaceae, algunas especies de *Acinetobacter*, fuera del complejo A. calcoaceticus - A. baumannii, no pueden crecer en agar McConkey. Los aislamientos de la especie A. haemolyticus y otras especies genómicas como: 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ,

16, y 17, pueden presentar hemólisis en el agar Sangre, una propiedad que no está presente en aislados en *A. baumannii* (Peleg, *et al.* 2008).

Bouvet y Grimont además de hacer la clasificación en 1986, estudiaron las características fenotípicas de los aislamientos incluidos en cada grupo. Para ello propusieron un esquema de identificación basado en 28 pruebas bioquímicas que incluía 19 pruebas de asimilación de fuente de carbono, 06 pruebas bioquímicas que incluían producción de hemólisis en Agar con 5% de sangre, oxidación de la glucosa, licuefacción de la gelatina y tres pruebas de crecimiento a 37°C, 41°C y 44 °C. Según estas pruebas se pudo identificar cada especie por sus características fenotípicas, a excepción de las especies 8 y 9 (Bouvet y Grimont, 1987) (Tabla N° 03).

Según la utilización de 6 fuentes de carbono (levulinato, citraconato, L-fenilacetato, L-fenilalanina, 4-hidroxibenzoato y L-tartrato) se han definido 19 biotipos de *A. baumannii*, de los cuales los biotipos 1, 2, 6 y 9 son los más frecuentemente hallados en muestras clínicas (Bouvet y Grimont, 1987). Los grupos 1 (*A. calcoaceticus*), 2 (*A. baumannii*), 3 (*A. pittii*) y 13 TU (*A. nosocomialis*) poseen características bioquímicas similares. La capacidad de crecer a 44° C y la utilización del L-tartrato podría ser una característica distintiva entre *A. baumannii* y las demás especies de este complejo (Gerner, 1992) (Tabla N° 04).

Para la identificación a nivel de especie, uno de los métodos estándares de referencia es el de hibridación ADN-ADN, que ha permitido la clasificación de 12 especies genómicas anteriormente mencionadas (Bouvet y Grimont, 1986).

En los últimos años se están empleando métodos basados en la secuenciación de los genes 16S ARNr o el gen *gyrB* (Ibrahim *et al.*, 1997). La ribotipia ha demostrado ser de gran utilidad para identificar los aislamientos de *Acinetobacter* spp., especialmente

para diferenciar las especies del complejo *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* (Gerner, 1992). Se han utilizado diferentes métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa, entre los que se pueden destacar: el método ARDRA, polimorfismo de la región espaciadora 16S-23S, ARNt o AFLP (Vanechoutte *et al.*, 1995).

Todos estos métodos han contribuido a una mejor comprensión de la epidemiología y la importancia clínica de las especies de *Acinetobacter* en los últimos años, pero son complejos para ser aplicados en microbiología de diagnóstico del día a día (Turton *et al.*, 2006).

Tabla N° 03. Pruebas fenotípicas para la diferenciación de especies de *Acinetobacter*
(Según Bouved y Grimont, 1986)

Características	Especies ^a																
	1	2	3	4	5	6	7	8/9	10	11	12	13	14	15	16	17	
crecimiento a 44°C	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
crecimiento a 41°C	-	+	+	+	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
crecimiento a 37°C	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	89	+	+	+	75	
Acido de D-glucosa	+	95	+	60	-	50	-	6	+	-	40	+	+	-	-	-	
Hidrólisis de gelatina	-	-	-	96	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
			Utilización de :														
DL- lactato	+	+	+	-	+	-	+	99	+	+	+	+	+	+	+	+	
DL-4aminobutirato	+	+	+	+	90	-	35	44	+	+	+	11	+	-	25	+	
trans-aconitato	+	99	+	52	-	-	-	-	-	-	-	11	67	-	-	50	
citrato	+	+	+	90	82	+	98	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
glutarato	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	
aspartato	+	+	+	64	40	66	61	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
Azelatto	+	90	+	-	-	-	-	+	50	25	+	-	+	-	-	-	
B-alanina	+	95	95	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	75	+	
L-histidina	+	98	94	69	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
D-malato	-	98	+	96	+	66	20	60	+	+	-	+	+	+	+	+	
Malonato	+	98	85	-	-	-	15	-	-	-	+	11	+	-	50	50	
Histamina	-	-	-	-	-	-	-	-	75	+	-	-	-	-	-	-	
L-fenilalanina	+	87	66	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
Fenilacetato	+	87	66	-	-	-	-	94	25	50	+	+	+	+	+	+	

Fuente: Towner *et al.*, 1996. ^aNumeración de especies según Bouvet y Grimont. 1, *A. calcoaceticus*; 2, *A. baumannii*; 3, *A. pittii* 4, *A. haemolyticus*; 5, *A. junii*; 7, *A. johnsonii*; 8/9, *A. iwoffii*; 13BJ; 11, *A. guillouiae* 12, *A. radioresistente*. Símbolos: +, todas las cepas son positivas; -, todas las cepas son negativas; los números indican los porcentajes de cepas positivas para esa prueba.

Tabla N° 04. Diferenciación fenotípica de especies del complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*

Características	ESPECIES			
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter pittii</i>	<i>Acinetobacter nosocomialis</i>
Crecimiento a 41° C	-	+	60	+
Crecimiento a 44° C	-	+	-	70
Utilización de:				
Malonato	+	+	+	30
Tartrato	+	90	90	-

Fuente: Casellas, 2012.

1.3. Hábitat natural de *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii ha sido recuperado del suelo, agua, animales, humanos, alimentos como vegetales, carne y pescado además de objetos inanimados. En algunos estudios se han aislado de alimentos como frutas y vegetales como manzana, melón, frijoles, coliflor, zanahoria, papa, lechuga entre otras, sugiriendo que puede ser una fuente potencial de colonización del tracto digestivo de pacientes hospitalizados (Berlaud, *et al.* 1999). *A. baumannii* también ha sido aislado de artrópodos como piojos (Giamarellou *et al.*, 2008), además se encuentran con mayor frecuencia en elementos hospitalarios en ventiladores, equipos de aspiración, colchones, almohadas, humidificadores, contenedores de agua destilada, dispensadores de jabón, y nebulizadores siendo un principal reservorio ocasionando a si las infecciones intrahospitalarias (Giamarellou *et al.*, 2008). Sin embargo esta especie forma parte de la flora normal de la piel, tracto gastrointestinal, urinario y nasofaringe en humanos en la comunidad, un estudio realizado por Berlau, en 192 voluntarios sanos, el 40% portaban *Acinetobacter* spp. predominando *A. iwoffii* con un 60% y solo un voluntario portaba *A. baumannii*, en contraste con el personal de salud, en el que este microorganismo se ha aislado en un intervalo del 3 al 23% (Diomedi, 2005).

En el ambiente hospitalario se aísla principalmente del tracto respiratorio de pacientes hospitalizados (Seifert *et al.*, 1997). Se ha sugerido que la piel puede ser fuente de infección por *A. baumannii* causando bacteremia (Bergogne y Towner, 1996).

2. Implicancia clínica de *Acinetobacter baumannii*

Las especies de *Acinetobacter* están implicadas en diversos tipos de infecciones, pero la mayoría son nosocomiales. En los últimos años, la incidencia de *A. baumannii* ha aumentado considerablemente en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), siendo el microorganismo más frecuente en muchos hospitales, aislándose principalmente de muestras respiratorias y durante epidemias; la incidencia de colonización fecal es de más del 40% (Bergogne y Towner, 1996).

También es un “recién llegado” a las infecciones adquiridas en la comunidad social, como en países tropicales y sub tropicales (Diomedi, 2005), que afectan principalmente a pacientes con algún tipo de comorbilidad (bronquitis crónica, diabetes mellitus, cáncer, diálisis ambulatoria, etc.), tabaquismo y alcoholismo (Muñoz y Weinstein, 2008). En Pubmed, se ha publicado 80 casos de infecciones por *A. baumannii* adquiridas en la comunidad originando casos de neumonía (51) y bacteriemia (29), el 56% murieron. Además, se identificaron 26 informes con 43 casos presentando cuadros de neumonía (38), meningitis (2), infección de los tejidos blandos (1), infección ocular (1) y endocarditis sobre válvula nativa (1). La mayoría de los estudios se ha reportado en China, Taiwán y Australia tropical (Falagas y Rafailidis, 2007).

Según los reportes e investigaciones esta especie puede causar principalmente (Vanegas *et al.*, 2014):

- Infección respiratoria
- Infecciones del tracto urinario
- Bacteremias
- Meningitis

- Infecciones de piel y tejidos (SSTIs)
- Endocarditis
- Peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria.
- Colangitis
- Osteomielitis e infecciones oculares.

2.1. Factores predisponentes o de riesgo

Existen varios factores de riesgo que predisponen a la infección severa por *Acinetobacter*, muchos de ellos son factores comunes a otros organismos que también causan infecciones nosocomiales e incluyen: factores dependientes del huésped (inmunosuprimidos, cirugía mayor reciente, traumatismo, quemaduras, la edad avanzada, enfermedad pulmonar crónica) (Bergogne y Towner, 1996) y factores externos (ingresos en hospitales (>500 camas), estancia prolongada, sobre todo en UCI, ingreso en un servicio donde *A. baumannii* sea endémico, exposición a equipamiento médico contaminado, uso de dispositivos intravasculares, catéter arterial, catéter urinarios, sonda vesical, presencia de sonda gástrica o endotraqueal y tipo de equipo respiratorio pueden aumentar el riesgo de neumonía o colonización del tracto respiratorio inferior (Raniphal y Kluge, 1979; Lortholary *et al.*, 1995), tratamientos antimicrobianos con cefalosporinas de tercera generación, quinolonas, carbapenemes (fundamentalmente Imipenem, Meropenem o Piperacilina-tazobactam) en las últimas 6 semanas (Zuñiga *et al*, 2011).

2.2. Persistencia en el ambiente hospitalario

Estos microorganismos pueden hacerse endémicos y persistir en ambientes hospitalarios durante años, por ejemplo en el suelo, en superficies húmedas, y a diferencia del resto de bacterias Gram negativas, puede resistir por un largo periodo

en ambientes secos (Bayuga *et al.* ,2002), reportándose una sobrevida mayor a 7 días para *A. iwoffii* y mayor a 25 días para *A. baumannii* (Diomedi, 2005), y periodos hasta de 5 meses en superficies inanimadas (Cefai *et al.*, 1990). Comparado con otros bacilos Gram negativos que permanece solo pocos días, por ejemplo *Escherichia coli* 24 horas y *Pseudomonas aeruginosa* menos de 24 horas (Jawad *et al.*, 1994).

Una de las razones para tal persistencia podría ser la resistencia a los antibióticos, desinfectantes, metales, sales y otras sustancias de uso hospitalario (Dhakephalkar y Chopade, 1994) o bien la supervivencia en ambientes secos inanimados, así como en la piel de individuos sanos, del personal sanitario. (Wendt, 1997). Estas bacterias pueden sobrevivir durante horas al aplicarlas experimentalmente sobre la piel y además parecen resistir a la clorhexidina, cuando ésta se utiliza como desinfectante (López, 1998).

2.3. Mecanismos de transmisión

Entre los mecanismos de transmisión se han descrito los que se relacionan con una sola cepa que contamina un objeto del entorno del paciente, seguida de la colonización o infección del paciente, en la cual el personal de la salud no interviene. Pero el principal mecanismo de transmisión cruzada entre un paciente y otro son las manos del personal de la salud, convirtiendo al paciente en el principal reservorio, a partir del cual se mantiene la contaminación ambiental. Se ha reportado que en las manos del personal de la salud, existe entre el 16% y 27% de microorganismos no relacionados con los pacientes y hasta un 30% de gérmenes directamente relacionados con los pacientes (Figura N°01) (Diomedi, 2005, Salas *et al.*, 2002).

En el caso de *A. baumannii* se ha encontrado en un 38,7% en guantes o batas del personal de la salud y un 4,5% de ellos presentaron contaminación en sus manos después de la remoción de los guantes desechables. (Vanegas *et al.*, 2014).

La transmisión aérea es un mecanismo de transmisión poco descrito, debido a que en comparación con los mecanismos directos, tiene poca importancia en la epidemiología de las infecciones nosocomiales. Sin embargo, existe evidencia de que al implementar tecnologías como el recambio de aire por hora y la filtración del aire que va a ingresar a estas áreas, disminuye la incidencia de colonizaciones en las UCIs (Kerr, *et al.*, 2006).

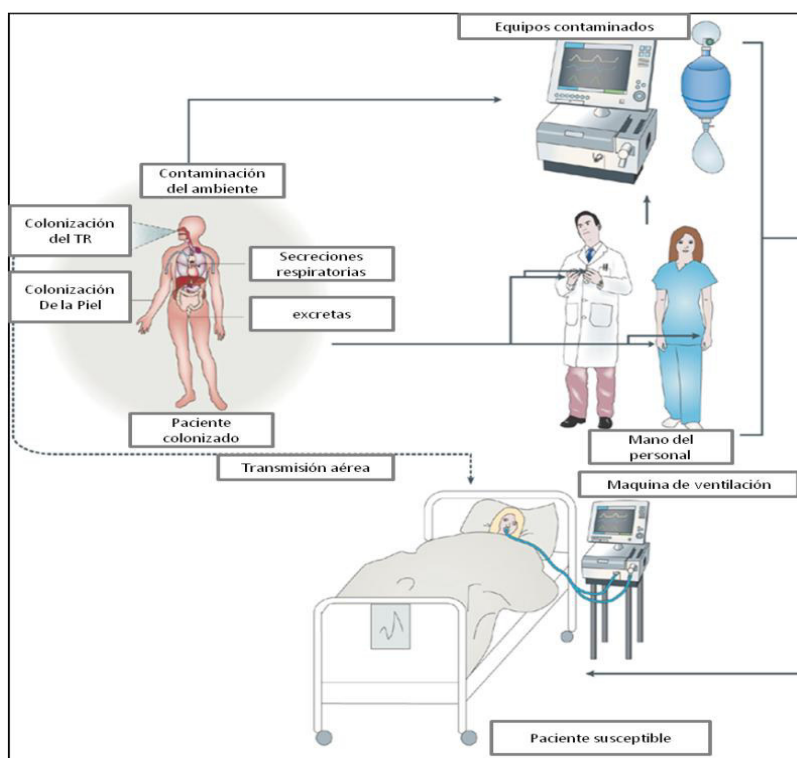


Figura N° 01. Mecanismo de transmisión de *Acinetobacter baumannii* en el área hospitalaria (Dijkshoorn *et al.*, 2007)

3. Resistencia antimicrobiana y mecanismos involucrados

Hasta la década de los años 70, las cepas de *Acinetobacter* spp. se consideraban altamente sensibles, pero ante el empleo continuo de antibióticos de amplio espectro, la selección natural de las especies y sus eficientes mecanismos de generar resistencia antibiótica, se han vuelto multirresistentes, definiendo como tales las que resisten a 3 o más familias de antibióticos, todas las penicilinas y cefalosporinas (incluyendo las combinaciones con inhibidores de las β -lactamasas), quinolonas y aminoglucósidos. Si además son resistentes a los carbapenemes reciben el nombre de extremadamente resistentes (XDR), y si amplían la resistencia a colistina y tigeciclina se las denomina panresistentes (PDR) (Falagas y Karageorgopoulos, 2008).

La multirresistencia en este microorganismo Gram negativo es producto de la combinación de mecanismos de resistencia, que pueden ser inherentes de la especie o adquiridos, por ejemplo, a través de elementos móviles como plásmidos y transposones, que finalmente se manifiesta como resistencia a una amplia gama de antibióticos. Esta habilidad de desarrollar rápidamente resistencia a antibióticos de amplio espectro, está asociada con la región cromosómica que se encuentra a 86 kb. Los patrones de resistencia que desarrollan las cepas varían según la zona geográfica (Diomedi, 2005).

3.1. Mecanismo de resistencia a β -lactámicos

A. baumannii presenta resistencia a un gran número de antibiótico como a cefalosporinas, aminoglucósidos, quinolonas y tetraciclinas. El principal mecanismo de resistencia a β -lactámicos en *A. baumannii* es la producción de enzimas llamadas β -lactamasas que hidrolizan el anillo β -lactámico inactivando el fármaco (Tabla N°05) (Peleg *et al.*, 2008). Otros mecanismos también involucrados son cambios en las

proteínas de unión a penicilinas (PBP) (Pérez *et al.*, 2007), alteración en la estructura y número de porinas cuyo resultado es la disminución en la permeabilidad del antibiótico a través de la membrana bacteriana externa (Pérez *et al.*, 2007) y la actividad de las bombas de eflujo AdeABC, que toman el antibiótico del espacio periplásmico y lo expulsa al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción (Peleg *et al.*, 2008; Tafur *et al.*, 2008).

Tabla Nº 05. Mecanismos enzimáticos de resistencia a β -lactámicos en *A. baumannii*

β-lactamasas	Variantes	Perfil de resistencia
Clase A	B-lactamasas de amplio espectro: TEM-1, TEM-2,	Penicilinas
	CARB-5, VEB-1, PER-1, PER-2, TEM-92, TEM-116. SHV-5, SHV-12, CTX-M-2, CTX-M-43	Cefalosporinas de espectro extendido, aztreonam
	Carbapenemasas KPC	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam
Clase B	Carbapenemasas IMP, VIM, SPM, SIM y NDM	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas, no hidrolizan el aztreonam
Clase C	Amp C(ADC); CARB-5	Penicilina, cefalosporina
Clase D	Carbapenemasas: OXA-23, OXA-24 OXA-58, OXA-51	Carbapenémicos, penicilinas, cefalosporinas (débilmente cefalosporinas de tercera y cuarta generación)

Fuente: Vanegas *et al.*, 2014.

3.2. Mecanismo de resistencia a los aminoglucósidos

Varios mecanismos pueden estar involucrados en la resistencia a aminoglucósidos pero el principal en *Acinetobacter baumannii* es la mediada por enzimas modificadoras (acetiltransferasas -AAC-, nucleotiltransferasas -ANT- y fosfotransferasas -APH-) que son principalmente codificadas en plásmidos, y se asocian con elementos transponibles. El intercambio de plásmidos y la diseminación de transposones facilitan

la rápida adquisición de fenotipos de resistencia, no solo en la misma especie sino en diferentes especies bacterianas (Mingeot *et al.*, 1999).

Sin embargo, cuando estas enzimas se combinan con bombas de expulsión como la AdeABC pueden conferir resistencia a todos los aminoglicósidos. La metilación de la subunidad 16S del rRNA mediada por el gen *armA* también ha sido descrita en *A. baumannii* y al actuar sobre el blanco de acción de los aminoglicósidos también confiere resistencia a todos ellos. La gentamicina y la kanamicina también son sustratos para la bomba AbeM (Vanegas *et al.*, 2014) (Tabla N°06).

3.3. Mecanismo de resistencia a Fluoroquinolonas

La resistencia a quinolonas en *Acinetobacter baumannii*, es causada por modificaciones en la estructura secundaria de la ADN girasa y la topoisomerasa IV. Debido a mutaciones en segmentos definidos como Región Determinante de la Resistencia a Quinolonas (QRDR), en los genes *gyrA* y *parC* (genes que codifican para la subunidad de la ADN girasa y la topoisomerasa IV, respectivamente), disminuye la afinidad de la quinolona por la DNA girasa inhibiendo su acción (De la Fuente *et al.*, 2007). Las principales mutaciones observadas en *A. baumannii* es Ser-83 a Leu en el caso del gen *gyrA* y para el gen *parC* Ser-80 a Leu (Medina, 2011).

Un segundo mecanismo es la alteraciones en la permeabilidad o sistema de bombas de expulsión, pueden condicionar la actividad de las quinolonas, de este modo se puede explicar cómo algunos aislamientos de *Acinetobacter* presentan resistencia combinada a los tres principales grupos de antibióticos (betalactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas) (Moreau *et al.*, 1996) (Tabla N° 06).

Recientemente se ha reportado un nuevo mecanismo respectivamente asociado a plásmidos portadores de un gen nominado *qnr* que le confiere protección a la DNA girasa, y su prevalencia está aumentando en todo el mundo (Robicse *et al.*, 2006). El primer reporte de la presencia del gen *qnrA* en *A. baumannii* fue en Francia (Touati *et al.*, 2008). En la India se ha reportado la presencia de los genes *qnrA* y *qnrB*, sin embargo, *qnrS* no se detectó en ninguno de los aislados clínicos (Chaudhary *et al.*, 2013). En el Perú no existen reportes, hasta el momento, de la presencia de este gen en aislamientos de *A. baumannii*.

3.4. Mecanismo de resistencia a Tetraciclinas

Los principales mecanismos de resistencia a las tetraciclinas y sus derivados reportadas para cepas de *A. baumannii* está mediada por las bombas de eflujo y por protección ribosomal (Fluit *et al.*, 2005). Las bombas de flujo que expulsan tetraciclinas son codificadas por los genes *tet (A)* y *tet (B)*. El *tet (A)* se encuentra en el transposon similar a Tn1721 asociado al elemento IS que le confiere resistencia a tetraciclina, pero no a minociclina, mientras que la segunda expulsa tetraciclina y minociclina, este último, un agente con mayor actividad contra *A. baumannii* (Medina, 2011). En contraste, las bombas de eflujo tipo AdeABC confiere multirresistencia a todas las tetraciclinas, incluyendo a las tigeciclinas (nuevas tetraciclinas modificadas conocidas como glicilciclinas) (Peleg *et al.*, 2008). La resistencia generada por protección o interferencia con el sitio blanco en el ribosoma esta mediada por los genes *tet (M)* y *tet (O)* (Zuñiga *et al.*, 2011). Curiosamente, este *tet (M)* determinante era idéntico al descrito para *S. aureus* (Peleg *et al.*, 2008) (Tabla N° 06).

3.5. Mecanismo de resistencia a trimetoprim, sulfonamidas y cloranfenicol

La resistencia a sulfonamida está mediada por el gen *sul* que se encuentra asociado a un integron. El gen *dhfr* confiere resistencia a trimetoprim, mientras que la bomba de expulsión CraA (del inglés: *chloramphenicol resistance Acinetobacter*) confiere resistencia a cloranfenicol. La bomba AdeABC también confiere resistencia a estos dos últimos antibióticos (Vanegas *et al.*, 2014) (Tabla N° 06).

Tabla N° 06. Mecanismos de resistencia de *A. baumannii* a antibióticos diferentes de los β -lactámicos

Grupo de antibióticos	Mecanismo de resistencia	Variantes	Perfil de resistencia
Aminoglicósidos	Enzimas modificadoras de aminoglicósidos	AAC, ANT, APH	Variable
	Metilación 16S RNA	<i>armA</i>	Todos los aminoglicósidos
	Bombas de expulsión	AdeABC	Todos los aminoglicósidos
		AdeM	Gentamicina, kanamicina
Quinolonas	Mutación genética	<i>gyrA</i> , <i>parC</i>	Variable
	Bombas de expulsión	AdeABC	Todas las quinolonas
		AdeM	Variable
	Nuevo mecanismo	<i>qnr</i>	ciprofloxacina
Tetraciclinas, glicilciclinas	Bombas de expulsión	<i>Tet (A)</i>	Tetraciclina, pero no minociclina
		<i>Tet (B)</i>	Tetraciclina, minociclina
		AdeABC	Tetracilinas, glicilciclinas
Trimetoprim, sulfonamidas, Cloranfenicol	Alteración del blanco	<i>sul</i>	Sulfonamidas
		<i>dhfr</i>	Trimetoprim
	Bombas de expulsión	CraA	Cloranfenicol
		AdeABC	Trimetoprim, cloranfenicol

Fuente: Vanegas *et al.*, 2014.

4. Resistencia mundial de *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii se perfila como una de las causas de numerosos brotes globales, que muestra cada vez mayores tasas de resistencia. Hay informes de cepas *A. baumannii* MDR en los hospitales de Europa, América del Norte, Argentina, Chile, Colombia, Brasil, China, Taiwán, Hong Kong, Japón, Corea y de zonas remotas, como Tahití, en el Pacífico Sur. Estas cepas resistentes a múltiples fármacos, a menudo, se propagan para causar brotes a lo largo de ciudades enteras, países, y continentes (Gales *et al.*, 2012).

Los reportes en Latinoamérica son presentados por el SENTRY,(Tabla N° 07), las tasas de resistencia en *Acinetobacter baumannii* a carbapenemes, Ceftazidima, piperacilina-tazobactam, ciprofloxacina, gentamicina; están entre las más altas del mundo, mayor que las reportadas en Europa y Estados Unidos, documentándose brotes en Brasil, Uruguay, Chile, México y Colombia principalmente (Lee *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2011).

En el año 2003, los porcentajes de susceptibilidad a los antibióticos en Latinoamérica correspondían al 96% para polimixinas, 20% para cefalosporinas de tercera y cuarta generación, 50% para tetraciclinas y 32% para quinolonas y aminoglucósidos. El hecho además de que los patrones de resistencia varíen de forma significativa de unos países a otros, e incluso entre hospitales, habla de la necesidad de estudiar los perfiles de resistencia en nuestro entorno (Ramírez *et al.*, 2013).

En el 2004 se analizó las diferencias geográficas significativas del SENTRY en el perfil de susceptibilidad de *A. baumannii*. En muestras de infecciones de torrente sanguíneo, 25% de las cepas se mostró resistencia a ampicilina/Sulbactam en Norteamérica versus 48.6 y 52.2% en Europa y Latinoamérica, respectivamente. La resistencia a

amikacina fue 17.7; 37.9 y 46.9% en el mismo orden. En Europa existe mayor resistencia a imipenem (25.7%) versus Norteamérica (12.1%) y Latinoamérica (8.8%). polimixina B muestra porcentajes de sensibilidad similares de 97,6% en Norteamérica, 98,9% en Europa y 98,2% en Latinoamérica (Tognim *et al.*, 2004). La resistencia a algunos antibióticos marcadores como los carbapenémicos se ha incrementado de 9% en 1995 a 40% en 2004 en hospitales de Estados Unidos, y esta resistencia es aún mayor en hospitales en Latinoamérica, presentándose entre el 50% y el 70% (Gales *et al.*, 2012).

Con respecto a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, según el reporte del SENTRY (2001-2004), muestra una sensibilidad mayor en Norteamérica y Asia-Pacífico; cefepime, 57-58% y Ceftazidima, 54-58% respectivamente. Europa y Latinoamérica presenta una sensibilidad similar de 36-40% para esta familia de antibióticos (Gales *et al.*, 2012).

Con respecto a los carbapenems, según el reporte del SENTRY (2006-2009), la resistencia a Imipenem; en Europa, Norteamérica y Asia Pacífico se ha incrementado en un 50-75%, datos similares a los reportados en Latinoamérica (Gales *et al.*, 2011).

En España los datos de un estudio realizados por Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) y de la SEIMC, demostraron una elevada prevalencia de *A. baumannii* resistente a antimicrobianos, particularmente a los carbapenémicos, los porcentajes de resistencia a imipenem y meropenem, entre 2000 y 2010 fueron, 48 y 43 versus 82 y 83 (%). Se detectó una disminución en los porcentajes de resistencia a aminoglucósidos (2000-2010), lo cual podría estar relacionado con una disminución en su uso (Fernandez *et al.*, 2013).

Tabla N° 07. Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana en Latinoamérica (1997-2010)

Porcentaje de sensibilidad por año (número de cepas ensayadas)									
	n=193	n=215	n=129	n=123	n=166	n=295	n=4686	n=1806	n=845
ANTIBIÓTICOS	1997	1998	1999	2000	2001	2002-2003*	2006-2009	2004-2010	2008-2010
meropenem	91.3	87	89.1	82.9	81.9	NT	NT	33.9	NT
imipenem	91.2	87	88.4	82.9	83.7	84	NT	62.5	32.2
cefepime	33.7	27.4	48.8	38.2	30.4	41	35.1	25.3	
ceftriaxona	NT	NT	NT	NT	NT	NT	15.7	NT	NT
ceftazidima	29	17.7	37.2	35	45.8		32.3	10.5	18.3
ticar-ac. Clavulanico	19.2	20	32.6	28.5	23.5	NT	NT	NT	NT
ciprofloxacino	27.5	29.3	34.9	35.8	28.3	NT	32.7	NT	12.8
levofloxacino	29	30.7	37.2	39.8	28.9	42	NT	20.9	NT
tetraciclina	68.4	49.8	52.7	46.7	33.7	46	NT	NT	NT
amikacina	35.8	27	37.2	35	38	NT	44.8	30.4	33.8
gentamicina	33.7	30.2	40.3	31.7	30.7	NT	NT	NT	46.7
tobramicina	35.8	40.5	51.2	NT	45.8	NT	NT	NT	NT

Fuente: Tognim *et al.*, 2004; Diomedi, 2005; Gales *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2011 y Medeiro y Lincopan, 2013.

En el Perú, la resistencia se ha ido incrementando a través de los años, para las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, carbapenems, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, sulfamidas entre otros (Informe del INS, 2003-2011). En el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, entre los años 2004 al 2006, la resistencia para las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, aminoglucósidos, aztreonam fue >80%. Para los carbapenems la resistencia se incrementó desde, 0% en el año 2004 a 20% en el 2005 y 40% en el 2006 (Paz *et al.*, 2008)(Tabla N° 08).

En el 2008, el fenotipo de sensibilidad fue: amikacina del 24%, cefalosporina de tercera y cuarta generación (8-16%), Ciprofloxacina, 16% gentamicina 22%; Imipenem 55% y trimetoprim - sulfametoxazol, 19% (Estadística del servicio de Microbiología del HNGAI, 2008).

Tabla N° 08. Porcentaje de sensibilidad de *Acinetobacter* spp en el servicio de UCI – HNGAI (2004 -2006)

Antibiótico	Porcentaje de sensibilidad			
	Año			Promedio (N=34)
	2004 (n=33)	2005 (n=46)	2006 (n=55)	
Ak	9	11	14	11.3
AZ	7	5	5	5.7
CAZ	3	4	12	6.3
CIP	3	2	12	5.7
IMP	100	80	64	81.3
ME	100	79	64	81
FEP	6	4	12	7.3

Fuente: Paz *et al.*, 2008. Resistencia bacteriana en cuidados intensivos y tendencia actual: Departamento de Cuidados Críticos, Servicio de Cuidados Intensivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Essalud, Lima, Perú, 2004-2006.

Del 2009 al 2010 se evaluó la prevalencia y la susceptibilidad antibacteriana en dicho nosocomio (Tabla N° 09), llegando a la conclusión que *A. baumannii* es un microorganismo altamente drogorresistente, y representa un serio problema en el manejo terapéutico registrándose 73% MDR y un 55% a PDR. Los perfiles de sensibilidad de *A. baumannii* no tiene mayores variaciones según servicio de hospitalización; los fenotipos de sensibilidad para medicina, UCI, y cirugía son similares y específicamente en los aislados de tracto respiratorio inferior tampoco se encontró variaciones con los perfiles conjuntos. El fenotipo hospitalario es: ampicilina-Sulbactam 30%-40%, Ceftazidima <20%, imipenem 33%- 39%, Amikacina <20% y Ciprofloxacina <13% (Flores *et al.*, 2011). Para el 2011, la susceptibilidad antimicrobiana según el tipo de muestra fue menor en las secreciones respiratorias, para las cefalosporinas, quinolonas y amikacina. (Estadística del servicio de Microbiología del HNGAI, 2011)(Tabla N° 10).

Tabla N° 09. Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de *A. baumannii* en HNGAI- (2009-2010) según servicio de hospitalización

SERVICIO DE HOSPITALIZACIÓN	% SENSIBILIDAD														
	Tipo de muestra	N°	CTX	CAZ	FEP	IMP	TIR	AK	GN	TO	CIP	LEV	SXT	MD R	PDR
MEDICINA*	TD	100	13	19	19	39	28	19	22	22	13	15	16	80%	41%
	TRI	43	14	16	14	32	23	16	23	23	14	12	14	79%	63%
MEDICINA 1, 2,-3,-5 y GERIATRIA	TD	44	7	14	11	42	23	11	18	18	9	9	11	80%	51%
Neumología	TRI	23	4	4	9	19	13	9	13	9	4	4	4		
UCI	TD	56	0	5	7	33	18	9	20	23	7	7	14	78%	47%
	TRI	31	0	3	7	41	19	3	23	26	3	3	19	68%	48%
Cirugía*	TD	33	12	18	18	37	21	18	27	18	12	12	9	73%	55%

Fuente: Flores *et al.*, 2011. Reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana (Enero 2009-Junio 2010). MEDICINA: *Medicina -1, medicina -2, medicina -3, medicina -5, geriatría, cardiología, neumología, gastroenterología, nefrología, reumatología, endocrinología, dermatología, neurología, pediatría, oncología y hematología clínica. CIRUGIA*: cirugía de cabeza y cuello, cirugía cardiovascular, cirugía general (que incluye a su vez al servicio de coloproctología, servicio de esófago y estómago, servicio de emergencia y cuidados críticos, servicio de hígado y servicio de páncreas), cirugía de mano, cirugía de tórax, cirugía pediátrica, cirugía plástica, neurocirugía, traumatología y ortopedia, urología, transplante de hígado, y transplante renal.

Tabla N° 10. Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de *A. baumannii* (2011) según el tipo de muestra - HNGAI

AÑO	Tipo de muestra	N° de cepas	CTX	CAZ	FEP	IMP	TE	AK	GN	TO	CIP	LEV	SXT
2011	Hemocultivo	25	8	12	8	50	12	4	52	28	8	-	20
	Orina	36	14	14	14	-	47	11	31	22	11	14	19
	Secreción respiratoria	70	3	3	1	-	-	4	34	14	4	-	11

Fuente: Datos estadísticos del servicio de microbiología del HNGAI, 2011

En el Hospital Nacional Arzobispo Loayza de Lima en el reporte de resistencia antimicrobiana setiembre 2008 a junio 2009, la resistencia para las cefalosporinas fue >80%, Ciprofloxacina 100% y para Amikacina un 42%. La sensibilidad a los carbapenem fue del 100% (Angle, 2009). En el periodo julio 2010- julio 2011, el 23% de los aislamientos mostró resistencia a carbapenem, el 38,5% resistencia a aminoglucósidos y 69,2% a quinolonas; siendo el 46% de las muestras de tipo respiratorio (Valencia *et al.*, 2011). A comparación del Hospital Nacional Dos de Mayo, en el periodo 2006-2011 la frecuencia de *Acinetobacter baumannii* fue del 14-21% en muestras de secreción respiratoria de pacientes hospitalizados principalmente en la UCI y la resistencia a carbapenems varió entre 62% al 100% (Alvarezcano *et al.*, 2011; Montalvo *et al.*, 2013).

5. Prevalencia de *A. baumannii* en hospitales del mundo

Acinetobacter baumannii ha emergido como un significativo patógeno nosocomial en pacientes hospitalizados en todo el mundo en hospitales de países europeos como España, República Checa, Polonia, Italia, Portugal, Grecia, Francia, Turquía y Holanda, causando brotes en países de otros continentes como Estados Unidos, África del Sur, Israel y Australia (Asensio *et al.*, 2008). También se han reportado brotes en hospitales de países asiáticos como Corea, Taiwán, Japón y China, de países del Pacífico Sur, y en países de Latinoamérica como Chile, Argentina, Brasil y Colombia (Zuñiga *et al.*, 2011).

El Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY, monitoreó a los patógenos predominantes y los patrones de resistencia antimicrobiana de infecciones nosocomial y adquirida en la comunidad a través de una amplia red de hospitales en 5 regiones geográficas: la región de Asia-Pacífico, Europa, América Latina, Canadá y los Estados Unidos entre 1997 y 1999 (Gales *et al.*, 2001).

Las estadísticas de Canadá y los Estados Unidos muestran que los aislados de *Acinetobacter* se aislaron con frecuencia de muestras de heridas (2,0-2,4%) y del tracto respiratorio (1,4-3,9%), mientras que en América Latina principalmente de un de muestras respiratorias (7.1-11.6%), siendo dos veces más frecuentes que los aislados de muestras de heridas (Gales *et al.*, 2001).

Con respecto a la edad esta aumentó linealmente con la edad 11 a 80 años para ambos sexos. Se presentó tasa de prevalencia alta hasta la edad de 10 años (6,9-13,3%), especialmente entre los niños < 1 año de edad (3,3-5,6%), sin tener en cuenta el sexo o área geográfica. Por el contrario, se observó una disminución en el número de infecciones en los pacientes > 81 años de edad. Aproximadamente el 61,0% y el

63,0% de infecciones, fueron en pacientes varones en Canadá / Estados Unidos y América Latina, respectivamente (Gales *et al.*, 2001).

La distribución de las infecciones de *Acinetobacter* por servicio médico fue mayor en el área de medicina interna en ambas regiones. En Canadá / Estados Unidos, el segundo servicio donde se aisló esta especie fue en el área de cirugía. Sin embargo, para América Latina fue la unidad de cuidados intensivos (UCI). Este hallazgo podría indicar la presencia de clones endémicos en las unidades de cuidados intensivos (Gales *et al.*, 2001).

Entre las infecciones por *Acinetobacter* en América Latina, casi 60,0% fueron nosocomiales. Esta tendencia no se observó en el Región Canadá / Estados Unidos, donde las cepas de *Acinetobacter* fueron adquiridas tanto en el ambiente nosocomial y en la comunidad (Gales *et al.*, 2001).

En el año 2000, en Latinoamérica, *A. baumannii* alcanzo el 5,3% de todos los aislados de bacteriemias nosocomiales (Fluit *et al.*, 2005). En Chile las especies de *Acinetobacter* representaron 9,4% de todos los brotes nosocomiales reportados entre 1985 y 2002 (Brenner *et al.*, 2004). Según el sistema nacional de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud MINSAL (Chile) esta especie representa la primera causa de neumonía asociada a ventilador mecánico en adultos con 27.37% en el 2012. La misma fuente comunica que en infecciones del torrente sanguíneo en adultos, *A. baumannii* fue la sexta etiología con 7%, y la octava causa en ITU asociada a catéter urinario (3%) en Chile (Informe de Vigilancia de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, Chile, 2012).

En el Perú, el Instituto Nacional de Salud publicó un reporte que consolidó la información del trabajo realizado por los diferentes hospitales de la red de vigilancia durante el año 2006, 2007 y 2008, observando una frecuencia de aislamiento de *A. baumannii* en pacientes hospitalizados del 1-2.5% (96-150) (Instituto Nacional de Salud, 2006,2007 y 2008).

En los pacientes hospitalizados en el 2006 y 2007 la frecuencia según grupos etáreos fue en pacientes mayores de 10 años relacionándose más a infecciones urinarias como a infecciones del torrente sanguíneo. En la evaluación de la frecuencia de microorganismos aislados en pacientes hospitalizados según género, observamos que en el caso de *Acinetobacter sp.* la frecuencia es igual en ambos sexos (2-3%). El análisis de la frecuencia de microorganismos aislados en pacientes hospitalizados en el 2006 según la institución muestra que el Hospital Guillermo Almenara, presenta como organismo más frecuente vinculados directamente a una infección intrahospitalaria a los no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* (13%) y *Acinetobacter sp.* (10%), después de *S. aureus*. La distribución según el servicio de hospitalización y según la institución se muestra en la Tabla N° 11 (Instituto Nacional de Salud, 2006,2007 y 2008).

Tabla N° 11. Frecuencia de *Acinetobacter* sp y *Acinetobacter baumannii* en hospitales del Perú periodo 2004-2009

		total de microorganismos aislados	N		edades	Servicio de hospitalización				SEXO	
			Acinetobacter sp.	A. baumannii		UCI N°	NO UCI N°	UCI N°	NO UCI N°	FEMENINO	MASCULINO
					Acinetobacter sp.	Acinetobacter sp.	A. baumannii				
2004	H. Guillermo Almena Irigoyen	-				33/490					
2005	H. Guillermo Almena Irigoyen	-				46/426					
2006	H. Guillermo Almena Irigoyen	-				55/406					
2006	Hospital Hipólito Unanue	817	4%	0%	1% (< 10 años) 2% (>10 años)	30	31	3	19	2%	3%
	Hospital Sergio Bernales	377	1%	0%							
	Hospital San Bartolomé	511	0%	1%							
	INEM	1159	1%	1%							
	Hospital Guillermo Almena Irigoyen	136	10%	1%							
	Total	3000	16%	3%						(28/1376)	(26/997)
2007	Hospital Hipólito Unanue	884	2%	-	2% (>18 años) 1%(<18 años)	33	42	-	-	2%	2%
	Hospital Sergio Bernales	804	1%	-							
	Inst. Materno Perinatal	630	0%	-							
	H. E. Pediátricas	294	0%	-							
	H. Belén	29	0%	-							
	H. Dos de Mayo	994	4%	-							
	H. Las Mercedes	196	4%	-							
	Total	3831	11%	-						38/1926	35/1502
2008	Hospital Hipólito Unanue	1385	5%	1%	NR	36	114	-	-	NR	NR
	Inst. Materno Perinatal	575	2%	0.%							
	Hospital San Bartolomé	1024	1%	0.%							
	INEM	1522	1%	1%							
	H. Daniel Alcides Carrión	1590	4%	0%							
	Total	6096	13%	2%							
2008-2009	H. Nacional Arzobispo Loayza			2%				2		5	1

Fuente: Informe de la resistencia antimicrobiana en hospitales del Perú. INS-2006, 2007, 2008-2009.

En Lima, el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen entre los años 2004 al 2006 se realizaron reportes de frecuencia y resistencia en el Servicio de UCI de dicho nosocomio, encontrándose que la incidencia de las infecciones en la vías respiratorias por *A. baumannii* aumentó en 50%; de 13,2% en el 2004 a 20,2% en el 2006, desplazando al grupo de las Enterobacteriaceas. En este periodo hubo 2460 aislamiento de microorganismos, de los cuales *Acinetobacter baumannii* presentó una frecuencia del 2%(100 aislamientos). La frecuencia de esta especie según el tipo de muestra fue: Urocultivo, 1% (1/1187); hemocultivo, 5%(21/447); tracto respiratorio inferior, 13% (43/322); herida 7% (15/232); catéter vascular 5% (8/151) (Paz *et al.*, 2008). Para el 2008, la incidencia fue del 3% (135/4947), en muestras de Urocultivo estuvo presente en el 1 % (11/1922); en hemocultivo, 4% (32/825); en herida, 2% (9/393) y en secreciones respiratorias, 9% (51/557). Aislándose con mayor frecuencia en el servicio de UCI, 6% (41/728) seguido de Medicina Interna 1, 3% (10/304) (Estadística del servicio de Microbiología del HNGAI, 2008).

Un reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana, que data del 1 de Enero del 2009 hasta el 30 Junio del 2010 (1.5 años), informó sobre la prevalencia de microorganismo, según el tipo de muestra y el servicio de hospitalización en este periodo (Tabla N° 12) (Flores *et al.*, 2011). Para el 2011, se reportó en un 3%, presentándose mayormente en muestras de secreciones respiratorias, seguido de urocultivo y hemocultivo (Reporte del Servicio de Microbiología-HNGAI, 2011).

Sin embargo se ha registrado en el hospital, cepas aisladas de pacientes de consulta externa, en un 0.6% (Tabla N° 13) a comparación de países tropicales y subtropicales, donde se aísla con frecuencia a esta especie de muestras respiratorias en personas de la comunidad (Diomedi, 2005). En la India también se reportó un aislamiento de 8 cepas (4,5%), en muestras de secreción respiratoria, orina y fluidos de personas de la comunidad (Jaggi *et al.*, 2012).

Tabla N° 12. Prevalencia de *Acinetobacter* sp, según el tipo de muestra y servicio de hospitalización –HNGAI (1 Enero 2009 – 30 Junio 2010)

N°/MUESTRA SERVICIO DE HOSPITALIZACIÓN	n	Urocultivo	Hemocultivo	Tracto respiratorio inferior	Catéter vascular	Herida
Cardiología	4% (13/312)	0	7% (6/83)	8% (3/38)	0	0
Cirugía	3% (33/1029)	2% (8/414)	2% (3/143),	7% (7/98).	2% (3/134)	8 %(10/126)
Cirugía General	1% (4/328)	1% (1/83)	0	0	1% (1/73)	5% (2/38)
Cirugía cabeza-cuello	3% (1/37)	1% (6/769)	0	0	0	0
Cirugía plástica y quemados	12% (8/69)	0	16% (3/19)	0	11% (2/18)	17 % (2/12)
Clinico pediátrica	2%(4/217)	0	3% (3/90)	0	0	0
Emergencia adulto	NR	1% (6/769)	4% (6/147)	9% (2/23)	0	0
Geriatría	3%(5/181)	2% (10/648)	5%(10/189)	15% (15/98)	6% (4/65).	4% (5/115)
Medicina interna 1	5%(16/311)					
Medicina interna 2	3% (9/259)					
Medicina interna 3	3, (7/223)					
Medicina interna 5	4% (7/193)					
Neurocirugía	4% (7/170)	1% (1/76)	0	9% (6/65)	0	0
Traumatología	6%(9/146)	1% (1/75)	0	0	0	16% (6/38)
Transplante de hígado	4% (3/83)	7% (3/46)	0	0	0	0
U. C. Intensivo	7% (56/764)	0	(6%)(14/244)	(14 %)(31/217)	3% (3/89).	12% (3/25)
neonatología	2% (8/399)	0	1% (3/273)	0	5% (3/58)	0
emergencia pediátrica	NR	1% (1/139)	0	0	0	0
Neumología	NR	0	0	15 % (23/155).	0	0
Endocrinología	1.5 % (1/66)	NR	NR	NR	NR	NR
Gastroenterología	2% (1/54)	NR	NR	NR	NR	NR
urología	2% (1/40).	NR	NR	NR	NR	NR
neurología	3% (2/77)	NR	NR	NR	NR	NR
Dermatología	4% (3/68)	NR	NR	NR	NR	NR
oncología	9% (4/43)	NR	NR	NR	NR	NR
Nefrología	0.6% (1/172).	NR	NR	NR	NR	NR
Reumatología	4 % (3/69)	NR	NR	NR	NR	NR

Fuente: Reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana (Enero 2009- Junio 2010).

Tabla N° 13. Aislamientos de *Acinetobacter baumannii* de urocultivo según tipo de consultorio externo

(%) Aislamiento de <i>A. baumannii</i>	Consultorios	Muestra
Consultorio externo 0.6% (11/1961)	Urología	0.5% (2/409)
	Consultorio de personal	0.4% (1/260)
	Pediatría	1% (2/252)
	Reumatología	1% (1/98)
	Nefrología	0.6%(3/498)

Fuente: Flores *et al.*, 2011. Reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana (Enero 2009- Junio 2010).

5.2. Factores de comorbilidad y morbilidad

Algunos países concluyen que los factores pronósticos asociados de forma independiente en el análisis multivariante a mayor infección y mortalidad son la enfermedad de base como la presencia de cardiopatía, EPOC y tratamiento antibiótico inadecuado, incluyendo la monoterapia. En Corea se demostró que la administración de un tratamiento empírico inadecuado en pacientes con bacteriemia por *Acinetobacter* era un factor predictor independiente de mortalidad a los 30 días (Kwon *et al.*, 2007; Maragakis *et al.*, 2008). Para Brasil las enfermedades subyacentes que se manifiestan con mayor frecuencia, son las enfermedades pulmonares obstructivas crónica (EPOC), las enfermedades del hígado, tales como la cirrosis, insuficiencia renal y complicaciones neurológicas (Machado *et al.*, 2010). En Colombia tiene como primer factor a pacientes con diabetes (67%), EPOC (26.2%), hipertensión (21%), falla renal (9.7%), en menor proporción cáncer, falla hepática y enfermedad genética del corazón (2%) (Galvis *et al.*, 2011; Lemos *et al.*, 2011; Lemos *et al.*, 2013).

A pesar que *A. baumannii*, posee pocos determinantes de patogenicidad se comporta con gran virulencia en situaciones en las que el paciente se encuentra sometido a intervenciones médicas invasivas. En estos pacientes es responsable de una elevada mortalidad asociada fundamentalmente en casos de neumonía en pacientes con

ventilación mecánica y en casos de bacteriemias por este microorganismo (Garnacho *et al.*, 2005).

En México, la mortalidad asociada a bacteremia es de 52% y la asociada a neumonía 23-73% (Ramírez *et al.*, 2013). Dado que la infección por *A. baumannii* multirresistente normalmente ocurre en pacientes gravemente enfermos e ingresados en UCI, la mortalidad asociada cruda es alta (26%-68%) (Maragakis *et al.*, 2008) a comparación si el paciente se encuentra en otros servicios de hospitalización la esta varía entre el 7,8% al 23% y si la infección es dada por una cepa sensible es del 9% y si es por una cepa multirresistente esta aumenta en 42% en un periodo de 30 días (Lemos *et al.*, 2011).

Es, sin embargo, muy difícil determinar en estos pacientes la mortalidad atribuible a la infección independientemente de la gravedad de sus enfermedades subyacentes. No obstante, muchos de estos estudios estaban limitados por el pequeño tamaño de la muestra, las diferencias metodológicas, y la dificultad para controlar de forma adecuada la gravedad de la enfermedad de base del paciente. Es posible que la infección por esta especie sea un marcador de aumento de la mortalidad en pacientes con enfermedad subyacente grave más que un predictor independiente de mortalidad (Falagas y Rafailidis, 2007; Maragakis *et al.*, 2008).

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS

H1: “La resistencia a algunos antimicrobianos está relacionada con la presencia de plásmidos en los aislados de *A. baumannii* de pacientes internados en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen”

3.2. OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo General:

- ✓ Determinar la relación entre la resistencia antimicrobiana y la presencia de plásmido de resistencia en aislamientos de *Acinetobacter baumannii* del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

3.2.2 Objetivos específicos:

- ✓ Identificar la especie de *Acinetobacter baumannii* aisladas de diferentes muestras de pacientes internados en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.
- ✓ Determinar los perfiles de resistencia antimicrobiana de las cepas de *A. baumannii* aisladas.
- ✓ Determinar la presencia de plásmidos en los aislamientos de *A. baumannii* y relacionar con la resistencia a antibióticos.
- ✓ Analizar la distribución de las cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de pacientes, según el tipo de muestra, servicio de hospitalización, edad, sexo, comorbilidad y mortalidad.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES

Material Biológico

- ✓ Cepa control:
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 - *Escherichia coli* ATCC 25922

- ✓ Aislados clínicos usados para el estudio.
 - Se incluyó aislamientos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos durante enero-diciembre del 2012, correspondientes a un total de cuarenta (40) cepas remitidas del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen-ESSALUD. Se utilizaron cepas aisladas de diferentes tipos de muestras y de pacientes hospitalizados. Cada muestra corresponde a un paciente internado de alguno de los servicios de dicho nosocomio.

Materiales de laboratorio y equipos.

Se utilizaron los materiales y equipos del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas- UNMSM.

4.2. MÉTODOS

Se inició con la recolección de las cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de muestras de pacientes internado en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, posteriormente se realizó la identificación fenotípica, prueba de susceptibilidad a 14 diferentes antibióticos de uso clínico y el estudio del perfil plasmídico seguido de una prueba de curación a las cepas resistentes a determinados antibióticos.

Además se determinó la prevalencia de esta bacteria intrahospitalaria en dicho nosocomio y los factores asociados a esta infección.

4.2.1. Recolección de datos epidemiológicos

Se elaboraron fichas para recoger información de datos clínicos con importancia epidemiológica mediante la revisión de las Historias Clínicas de los pacientes ubicadas en los archivos del Hospital. Los datos que se registraron fueron: Edad, sexo, fecha y diagnóstico de ingreso, servicio de estancia, tipo de muestra, factores de comorbilidad, mortalidad (Anexo 1).

Para la recolección de los datos de los pacientes se siguieron los siguientes criterios:

➤ Criterio de inclusión

Muestras positivas para *A. baumannii* procedentes de pacientes hospitalizados en el Hospital Guillermo Almenara que cumplan con la definición de Infección intrahospitalaria por la Organización Mundial de la Salud (OMS): “Infección que usualmente se hace evidente a las 48 horas o más de la admisión y hasta 7 días después de alta.”

➤ Criterio de exclusión

Pacientes con un tiempo de hospitalización menor de 48 horas y que no hayan reingresado dentro del periodo de 7 días al hospital.

4.2.2. Recolección de cepas clínicas

Se recolectaron un total de (40) cepas de *Acinetobacter baumannii* (Tabla N°15), aisladas de diferentes muestras clínicas de pacientes hospitalizados, obtenidas del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, durante el periodo Enero-Diciembre del 2012.

Las cepas fueron repicadas directamente de las placas con Agar Mac Conkey, siendo estas transportadas en un recipiente con hielo hasta el laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas, lugar donde se desarrolló la presente investigación.

4.2.3. Identificación de los aislamientos clínicos: métodos fenotípicos

4.2.3.1. Sistema Automatizado *Micro scan*.

La identificación y susceptibilidad antimicrobiana se realizó con la metodología de microdilución en caldo por puntos de corte del sistema automatizado *Micro Scan WalkAway* (*Siemens Medical Solutions Diagnostics*) con paneles convencionales.

La interpretación de las susceptibilidades se basa de los lineamientos de interpretación del documento M100-S22 (CLSI, 2012).

En base al programa *Biotype Lookup en labPro Diagnostics* se hizo la identificación de *Acinetobacter spp.* a nivel de especie. Este sistema agrupa las especies de *Acinetobacter* en *Acinetobacter iwoffii* y el resto como *Acinetobacter baumannii\haemolyticus* (*Siemens Healthcare Diagnostics*).

4.2.3.2. Sistema convencional

La identificación se realizó mediante el crecimiento cultural característico en Agar Mac Conkey a una incubación de 37°C y en Agar Leeds *Acinetobacter* a una incubación de 44°C ambas por 24 horas, ya que según Bouved y Grimont, ésta especie se distingue del resto por la capacidad de crecer a esa temperatura. Además se realizaron pruebas de citocromo oxidasa, catalasa y tinción Gram.

Se realizaron pruebas bioquímicas como hidrólisis de la gelatina, citrato y TSI, según el esquema propuesto por Bouvet y Grimont (1986).

4.2.4. Criopreservación de las cepas

Los microorganismos identificados se criopreservaron en caldo glicerol 50% (1 volumen de Caldo BHI y 1 volumen de glicerol) por triplicado y se guardaron a -20°C con antibióticos.

4.2.5. Sensibilidad antimicrobiana

La prueba de susceptibilidad se realizó mediante el sistema automatizado *Micro Scan* tal como se explicó en 4.2.3.2 y de acuerdo al Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión de la *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI M100-S22, 2012) a las cepas de

Acinetobacter baumannii y a la cepa de referencia y para corroborar estos resultados se realizó la prueba de difusión por disco.

Para la preparación del inóculo se sembraron las cepas previamente en caldo BHI con antibiótico durante 24 horas a 37°C y posteriormente se sembraron en agar BHI para obtener colonias aisladas para la prueba de sensibilidad. Se tomaron colonias con crecimiento cultural característico y resuspendieron en solución salina hasta la concentración de 0,5 en la escala de Mc Farland. Con la ayuda de hisopos estériles, se tomó un inóculo y se sembró en césped sobre el agar Mueller-Hinton contenido en una placa de Petri, empleando la técnica de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966) tratando de diseminarlo sobre toda la superficie del agar y no dejar espacios. Luego se dejó secar y con la ayuda de pinzas estériles se colocaron 7 discos de antibiótico por placa (15 x 100mm).

El tiempo de incubación fue de 20-24 horas y luego se procedió a la medida del diámetro de los halos de inhibición en milímetros, todo esto basado en los estándares proporcionados por el CLSI (CLSI M100-S22, 2012). Los antibióticos usados se describen en la Tabla N° 14:

Tabla N° 14. Antibióticos de uso clínico para el tratamiento de infecciones por *A. baumannii*

Familia de antibióticos	Antibióticos
β- lactámicos	meropenem(MEP), imipenem(IMP), ticarcilina/Ac.clavulánico(TIM), ceftriaxona(CRO), ceftazidima(CAZ), cefotaxima(CTX), cefepime (FEP).
Aminoglucósidos	amikacina (AK), gentamicina (GN), tobramicina (TO).
Quinolonas	ciprofloxacina (CIP), levofloxacino (LVX)
Tetraciclinas	tetraciclinas (TET).
Sulfamidas	trimetoprim/sulfametoxazol (TMP- SXT)

Fuente: Servicio de Microbiología del Hospital Guillermo Almenara-ESSALUD

4.2.6. Perfiles plasmídicos.

4.2.6.1. Extracción de plásmidos

Se utilizó el kit de extracción *PureYield (TM) Plasmid Miniprep System* (Promega). Las cepas criopreservadas fueron reactivadas en 3 ml de caldo BHI con antibiótico y se incubó a 37°C por 18-24 horas. Luego se centrifugó el contenido a 13,000 rpm durante 4 minutos y el sedimento se resuspendió en 600 µl de buffer TE. Se adicionó 100 µl de solución de lisis celular y se mezcló por inversión 4 veces. Luego se agregó 300 µl de solución neutralizante y se mezcló por inversión 4 veces. El lisado se centrifugó a 13,000 rpm durante 5 minutos. Se decantó el sobrenadante que contiene el plásmido (~900 µl). El siguiente paso fue la purificación del DNA plasmídico. Para esto, se tomó una minicolumna del kit y en la parte inferior se fijó a un tubo vacío estéril de 1,5 ml. Se adicionó el sobrenadante obtenido anteriormente que contenía el plásmido y se centrifugó a 13,000 rpm por 1 minuto. Como el plásmido se encontraba ahora fijado en la minicolumna, se hizo dos pasos de lavado. Se cambió a un tubo nuevo de 1,5 mL y se adicionó 200 µl de la solución de eliminación de endotoxina (ERB) y se centrifugó a 13,000 rpm por 1 minuto.

Luego se realizó un segundo lavado, para lo cual se agregó 400 µl de solución de lavado (CWC) y se centrifugó a 13,000 rpm por 1 minuto. Para el último paso que es la elución del plásmido, se transfirió la minicolumna a un tubo nuevo de 1,5 mL y se agregó 30 µl de buffer de elución o agua libre de nucleasas a la minicolumna, y se dejó por 1 minuto a temperatura ambiente. Luego se centrifugó a 13,000 rpm durante 1 minuto y después se removió la minicolumna para finalmente guardar el DNA plasmídico a -20°C.

4.2.6.2. Electroforesis de plásmidos

Para evidenciar la presencia de los plásmidos y observar el tamaño de éstos, se mezclaron el DNA plasmídico con buffer de carga 6X en proporción 5:1 y se usó el marcador DNA *Lambda DNA/Hind III* (Promega). Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, en buffer TAE 0.5X, a 70 V. Luego, el gel fue teñido en bromuro de etidio y finalmente se observó en un transiluminador UV.

En este paso se seleccionaron las cepas que presentaban plásmidos para proseguir con la curación de las cepas.

4.2.7. Curación de las cepas con bromuro de etidio (EtBr)

Para poder determinar si la resistencia en las cepas de *Acinetobacter baumannii* se debía a la presencia de plásmidos, se procedió al curado de los mismos en las cepas resistentes. Para el proceso de curación se trabajó con una solución madre de EtBr al 1% y se determinó la concentración adecuada mediante el procedimiento que se describe a continuación (Pahwa *et al.*, 2012).

4.2.7.1. Determinación de la concentración de EtBr para la curación

Para determinar la concentración adecuada de EtBr para la curación, se sembraron las cepas en 3 ml de caldo BHI hasta alcanzar la turbidez de 10^5 cel /ml, luego se tomó 5 µl del caldo y se sembró en 3ml de caldo BHI, conteniendo diferentes concentraciones de EtBr (70-700 µg/ml) a partir de una solución madre de EtBr al 1% (Pahwa *et al.*, 2012), esto se realizó tres veces, para conseguir una curación total y no parcial. Los tubos se incubaron a 37°C durante 24 h. Transcurrido este tiempo se tomaron las concentraciones máximas de EtBr en las cuales creció cada una de las cepas, y se

realizó la prueba de sensibilidad antimicrobiana y la extracción de plásmidos post – curación.

4.2.7.2. Curación de las cepas

Con la concentración adecuada de EtBr obtenida anteriormente, se procedió a realizar la curación de las cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a los 14 diferentes antimicrobianos (Tabla N° 14), para lo cual se utilizó EtBr a una concentración de 300 µg/ml. Para este proceso, se sembraron cada una de las cepas en 3 mL de caldo BHI conteniendo EtBr y se dejó incubando a 37°C durante 24 h (Pahwa *et al.*, 2012), este proceso se realizó tres veces.

4.2.8. Sensibilidad antimicrobiana post-curación

Transcurrido este tiempo se realizó una prueba de sensibilidad a los 14 antimicrobianos (Tabla N° 14) por el método de disco difusión a cada una de las cepas para verificar si las resistencias se perdían o se mantenían.

4.2.9. Perfil plasmídico post-curación

4.2.9.1. Extracción de plásmidos post-curación

Para determinar la pérdida de plásmidos después de la curación se realizó la extracción de plásmidos usando el kit de extracción *PureYield(TM) Plasmid Miniprep System (Promega)*, siguiendo el mismo procedimiento indicado en 4.2.6.1.

4.2.9.2. Electroforesis de plásmidos post-curación

Para evidenciar la pérdida de plásmidos, se realizó una electroforesis, tal como se explicó en 4.2.6.2.

4.2.10. Análisis de datos epidemiológicos.

Mediante las fichas de recolección de datos (Anexo 2), se determinó la prevalencia de esta especie en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, según el tipo de muestra, el servicio de hospitalización, edad y sexo para lo cual se utilizó los programas SPSS 21 y Microsoft Office Excel 2007.

Se obtuvieron medidas de tendencia central de las variables numéricas con significancia estadística $p < 0.05$ e intervalo del 95% y la prueba de T *Student*. Las variables categóricas fueron evaluadas mediante distribución porcentual con significancia estadística de $p < 0.005$ e intervalo de confianza del 95% y la prueba del Chi cuadrado.

Además se determinó los factores predisponentes asociados a dicha infección y la mortalidad.

V. RESULTADOS

1. Identificación de cepas de *Acinetobacter baumannii* de origen clínico.

Se identificaron un total de 40 cepas de *Acinetobacter baumannii* (Tabla N°15) por la metodología de microdilución en caldo por puntos de corte del sistema automatizado *Micro Scan* (Figura N° 02) y por el método convencional en el medio Leeds *Acinetobacter* (Figura 03A), donde presentó características culturales típicas: colonias mucosas de color rosa claro rodeadas de un color malva difundido en el medio. Las colonias presentaron morfología circular, convexas, lisas, opacas, con borde entero y de 1 a 2 mm de diámetro después de una incubación de 24 horas a 44°C. En el medio Agar Mac Conkey (Figura N° 03B) tuvo un crecimiento característico: colonias rosadas opacas y mucosas con un diámetro de 1 a 2 mm después de una incubación de 24 horas a 37 °C y en la coloración gram se observó una morfología de bacilos y coco-bacilos Gram negativos.

Para la identificación, se realizaron pruebas bioquímicas diferenciales, obteniendo una reacción de citocromo oxidasa negativa (-) y prueba de catalasa positiva (+), así como, sobre la base del esquema propuesto por Bouvet y Grimont (1986), resultó en una prueba de hidrólisis de la gelatina negativa (-), citrato positiva (+) y TSI K/K (no fermentador) (Figura N° 04).

Tabla N° 15. Cepas aisladas de *Acinetobacter baumannii* del HNGAI

Código de cepa	Origen de la Muestra	Servicio de hospitalización
Acb 1	Orina	Dermatología
Acb 2	Aspirado endotraqueal	UCI*
Acb 3	Sangre	Medicina Interna 2
Acb 4	Aspirado endotraqueal	Medicina Interna 1
Acb 5	Líquido peritoneal	Cirugía General 5
Acb 6	Aspirado endotraqueal	UCI*
Acb 7	Aspirado endotraqueal	UCI*
Acb 8	Aspirado endotraqueal	Neumología
Acb 9	Orina	Reumatología
Acb 10	Aspirado endotraqueal	Medicina Interna 1
Acb 11	Sangre	Clínico pediátrico
Acb 12	Orina	Reumatología
Acb 13	Sangre	UCI*
Acb 14	Aspirado endotraqueal	Medicina Interna 1
Acb 15	Heridas no quirúrgicas	Cirugía General 5
Acb 16	Aspirado endotraqueal	UCI*
Acb 17	Aspirado bronquial	Medicina Interna 1
Acb 18	Aspirado endotraqueal	UCI*
Acb 19	Líquido peritoneal	Cirugía General 5
Acb 20	Aspirado bronquial	UCI*
Acb 21	Catéter vascular periférico	Cirugía General 5
Acb 22	Catéter venoso central	Cirugía maxilo-facial
Acb 23	Catéter vascular periférico	UCI*
Acb 24	Aspirado endotraqueal	Medicina Interna 5
Acb 25	Líquido biliar	Cirugía General 2
Acb 26	Aspirado endotraqueal	Medicina Interna 2
Acb 27	Orina	Medicina Interna 5
Acb 28	Lavado bronquioalveolar	UCI*
Acb 29	Heridas no quirúrgicas	Medicina Interna 2
Acb 30	ND*	ND*
Acb 31	Aspirado bronquial	Neumología
Acb 32	Sangre	Medicina Interna 2
Acb 33	Intrabdominal	Medicina Interna 2
Acb 34	Aspirado bronquial	Emergencia adulto
Acb 35	Orina	Medicina Interna 5
Acb 36	Sangre	UCI*
Acb 37	ND*	ND*
Acb 38	LCR	Neumología
Acb 39	Aspirado traqueal	medicina interna 1
Acb 40	Aspirado traqueal	clínica pediátrica

*ND: no identificado. UCI: Unidad de cuidados intensivos

2. Sensibilidad antimicrobiana

Se obtuvieron valores de los halos de inhibición del crecimiento en milímetros (mm) (Tabla N° 16), todas mostraron algún tipo de resistencia a los 14 antibióticos utilizados (Figura N° 05).

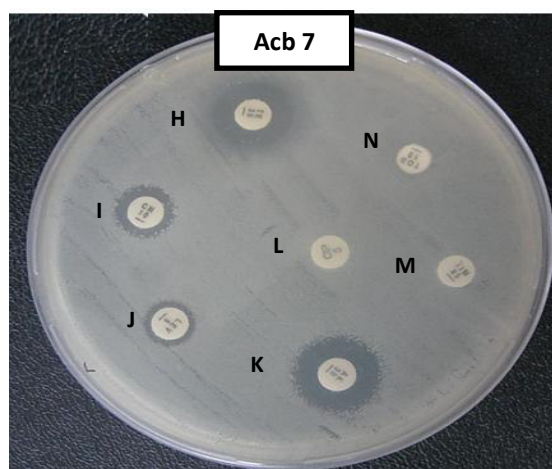
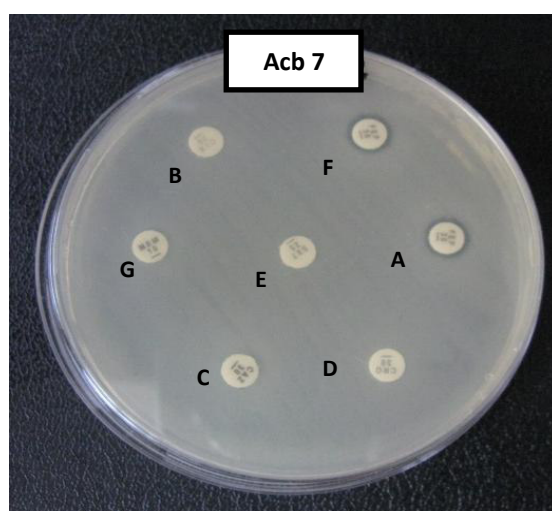


Figura N° 05: Antibiograma de una cepa de *Acinetobacter baumannii* (Acb7).

A:cefepime,B:cefotaxima,C:ceftazidima,D:ceftriaxona,
E:sulfametaxol/trimetoprim,F:imipenem,G:meropenem
H:tetraciclina,I:gentamicina,J:levofloxacino,K:amikacin
a,L:ciprofloxacino,M:ticar./ac.clav., N:tobramicina.

Tabla N° 16. Halos de inhibición de crecimiento de *A. baumannii* mediante Prueba de Disco Difusión*

CEPAS	ANTIMICROBIANOS													
	FEP	CAZ	CRO	CTX	MER	IM	TIM	GN	AK	CIP	TE	SXT	LE	TO
<i>Acb 1</i>	9	7	7	8	7	7	7	14	12	7	15	7	10	17
<i>Acb 2</i>	11	7	7	7	9	9	7	15	10	7	20	7	12	16
<i>Acb 3</i>	12	8	7	7	9	8	7	13	15	7	21	7	27	19
<i>Acb 4</i>	12	7	7	7	8	7	7	16	13	7	20	7	24	18
<i>Acb 5</i>	11	7	7	7	9	9	7	17	15	7	15	7	7	18
<i>Acb 6</i>	10	7	7	7	9	9	7	13	10	7	13	7	7	12
<i>Acb 7</i>	8	7	7	7	8	7	7	7	10	8	12	7	7	10
<i>Acb 8</i>	12	7	7	7	7	7	7	17	13	7	14	7	10	15
<i>Acb 9</i>	7	9	7	7	9	9	7	16	14	7	15	7	9	17
<i>Acb 10</i>	13	9	7	7	7	9	7	16	13	7	15	7	9	17
<i>Acb 11</i>	13	7	7	7	9	8	7	15	12	7	17	7	7	7
<i>Acb 12</i>	12	7	7	7	7	7	7	14	13	7	14	7	10	15
<i>Acb 13</i>	13	8	7	7	9	9	7	15	12	7	18	7	10	18
<i>Acb 14</i>	12	8	7	7	8	10	7	17	12	7	15	7	10	17
<i>Acb 15</i>	10	7	7	7	10	10	7	16	13	7	15	7	10	16
<i>Acb 16</i>	11	7	7	7	10	10	7	7	7	7	22	7	7	7
<i>Acb 17</i>	17	11	7	7	12	10	7	7	10	8	20	7	7	10
<i>Acb 18</i>	11	8	7	7	10	10	7	15	14	7	14	7	10	16
<i>Acb 19</i>	11	15	8	9	7	8	7	14	12	7	13	7	11	14
<i>Acb 20</i>	7	7	7	7	7	7	7	16	13	7	15	7	10	16
<i>Acb 21</i>	10	7	7	7	7	7	7	15	11	7	7	7	10	15
<i>Acb 22</i>	12	7	7	8	7	7	7	16	13	7	15	7	9	16
<i>Acb 23</i>	13	14	10	8	8	8	7	17	11	7	10	21	10	19
<i>Acb 24</i>	11	7	7	7	10	10	7	15	15	7	7	7	10	15
<i>Acb 25</i>	8	7	7	7	8	7	7	17	13	7	14	7	8	17
<i>Acb 26</i>	11	7	7	7	10	10	7	15	13	7	20	7	10	20
<i>Acb 27</i>	10	7	7	7	7	7	7	7	13	7	12	7	9	9
<i>Acb 28</i>	11	7	7	7	9	9	7	7	10	7	13	7	10	13
<i>Acb 29</i>	12	7	7	7	10	9	7	13	8	7	7	7	7	14
<i>Acb 30</i>	12	7	7	7	9	10	7	14	13	7	16	7	13	16
<i>Acb 31</i>	9	7	7	7	7	9	7	13	13	7	12	7	9	18
<i>Acb 32</i>	13	7	7	7	9	7	7	14	7	7	7	7	7	13
<i>Acb 33</i>	12	7	7	7	10	7	7	7	11	7	7	7	7	7
<i>Acb 34</i>	12	8	7	7	9	7	7	9	13	7	13	7	10	8
<i>Acb 35</i>	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
<i>Acb 36</i>	12	7	7	7	10	7	7	7	11	7	7	7	7	7
<i>Acb 37</i>	11	7	7	7	7	9	7	7	7	7	7	7	7	7
<i>Acb 38</i>	10	7	7	7	10	7	7	8	14	7	7	7	7	8
<i>Acb 39</i>	7	7	7	7	7	7	7	7	9	7	9	7	7	7
<i>Acb 40</i>	9	7	7	8	7	7	7	10	8	7	8	7	10	9

*Los números indican el tamaño (mm) de los halos de inhibición.

(CRO) ceftriaxona, (CAZ) ceftazidima, (CTX) cefotaxima, cefepime (FEP), (MER) meropenem, (IMP) imipenem, (TIM) ticarcilina/Ac.clavulánico, (AK) amikacina, (GN) gentamicina, (TO) tobramicina, (CIP) ciprofloxacina, (LVX) levofloxacino, (TET) tetraciclinas, (TMP-SXT) Trimetoprim/sulfametoxazol.

En la Tabla 17 y 18 se muestra que el 100% de las cepas de *A. baumannii* presentaron resistencia a cefalosporina de tercera generación, meropenem, imipenem, ciprofloxacino, ticar/ac. clavulánico. El 93.5% son resistentes a cefepime y sulfametoxazol-trimetoprim; 95 %, a levofloxacino; 90%, a amikacina; 45% a gentamicina; 37.5%, a tobramicina y el 30% son resistentes a tetraciclina. Algunas cepas presentaron sensibilidad intermedia a cefepime (2.5%), gentamicina y tetraciclina (27.5%); amikacina (7.5%) y tobramicina (15%). El 2.5% fueron susceptibles a sulfametoxazol-trimetoprim y amikacina, 5% a levofloxacina; 42.5 % a tetraciclina; 45% a gentamicina y el 47.5% a tobramicina.

Tabla N° 17. Patrón de sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Acinetobacter baumannii*

Cepas	ANTIMICROBIANOS													
Código	FEP	CAZ	CRO	CTX	MER	IM	TIM	GN	AK	CIP	TE	SXT	LEV	TO
Acb 1	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 2	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 3	R	R	R	R	R	R	R	I	I	R	S	R	S	S
Acb 4	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S
Acb 5	R	R	R	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	S
Acb 6	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R
Acb 7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
Acb 8	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R	I
Acb 9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 10	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 11	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 12	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 13	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 14	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 15	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
Acb 16	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
Acb 17	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
Acb 18	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S
Acb 19	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S
Acb 20	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S
Acb 21	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S
Acb 22	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	I
Acb 23	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S
Acb 24	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I
Acb 25	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S
Acb 26	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	R	R	S
Acb 27	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 28	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	I
Acb 29	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S	R	R	I
Acb 30	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S
Acb 31	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	S
Acb 32	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	I
Acb 33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 34	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 35	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 36	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 38	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 39	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Acb 40	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

R: Resistente; I: Intermedio; S: Sensible

Tabla N° 18. Susceptibilidad de las 40 cepas de *A. baumannii* a los antimicrobianos usados mediante la Prueba de Difusión por Disco

cepas	FEP		CAZ		CRO		CTX		MER		IMP		TIM		GN		AK		CIP		TE		SXT		LEV		TO	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
R	39	97.5	40	100	40	100	40	100	40	100	40	100	40	100	18	45	36	90	40	100	12	30	39	97.5	38	95	15	37.5
I	1	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	10.	3	7.5	0	0	11	27.5	0	0	0	0	6	15.0
S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	45.	1	2.5	0	0	17	42.5	1	2.5	2	5	19	47.5

El porcentaje de resistencia/sensibilidad de las cepas de *A. baumannii*, permitió visualizar la co-resistencia entre los β -lactámicos (meropenem, imipenem, ceftriaxona, ceftazidima, cefotaxima y cefepime), inhibidor de β -lactamasa (ticarcilina/ac.clavulánico), fluoroquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacina) y sulfamidas (sulfametoxazol-trimetoprim). (Figura N° 06).

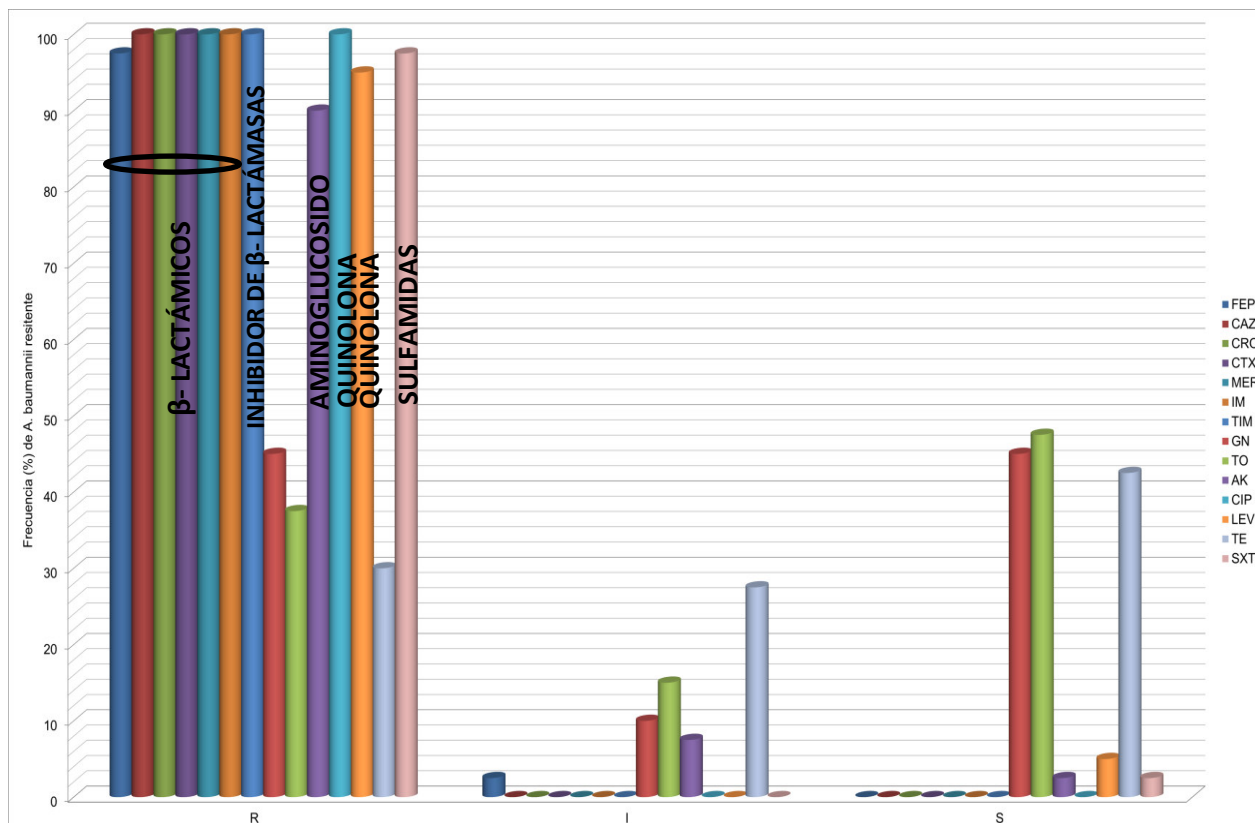


Figura N° 06: Frecuencia de resistencia/sensibilidad de las cepas de *A. baumannii* a diferentes antibióticos

Entre los aislados provenientes de pacientes hospitalizados, todas las cepas de *Acinetobacter baumannii*, fueron resistentes a 9 o más antimicrobianos, destacando en orden de frecuencia, el antibiotipo VI que muestra resistencia a 11 antimicrobianos, este fenotipo de resistencia fue expresado por el mayor número de cepas (40%), seguido del antibiotipo XII, presente en el 25%, los demás antibiotipos se presentaron en un 7.5% y 2.5 % respectivamente (Figura N° 07, Tabla N° 19 y Figura N° 08).

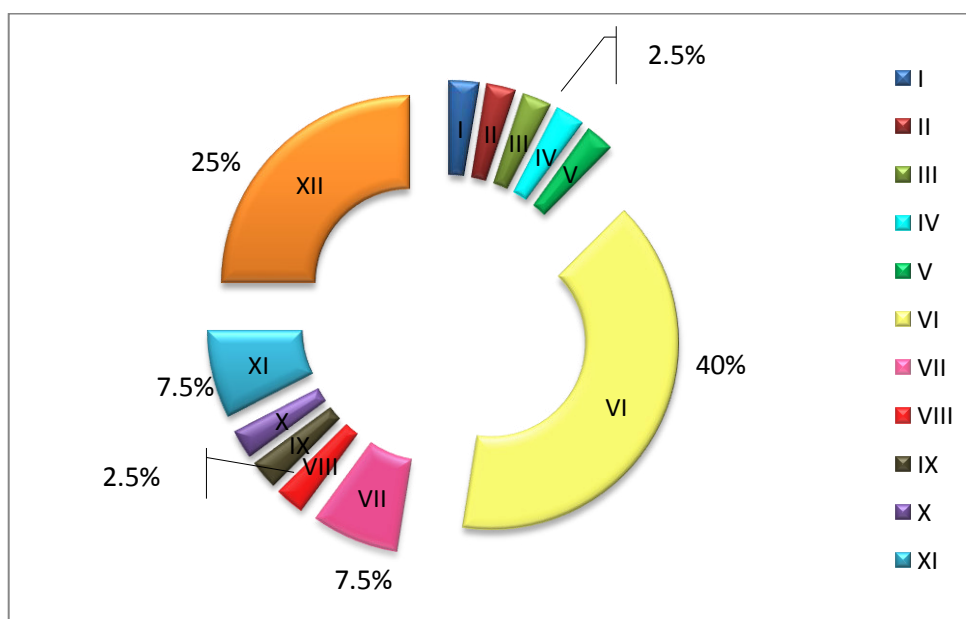


Figura N° 07. Frecuencia de antibiotipos de resistencia de *A. baumannii* presentes en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen-2012

Tabla N° 19. Antibiotipos observados en cepas de *A. baumannii* (n: 40)

Antibiotipo	Nº de antimicrobianos	Antimicrobianos a los que expresa resistencia	Nº de cepas	%
<i>I</i>	9	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, CIP, SXT	1	2.5
<i>II</i>	10	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, CIP, SXT, LEV	1	2.5
<i>III</i>	10	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, CIP, TE, LEV	1	2.5
<i>IV</i>	10	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, AK, CIP, SXT	1	2.5
<i>V</i>	11	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, GN, CIP, SXT, LEV	1	2.5
<i>VI</i>	11	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, AK, CIP, STX, LEV	16	40
<i>VII</i>	12	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, GN, AK, CIP, SXT, LEV	3	7.5
<i>VIII</i>	12	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, AK, CIP, SXT, LEV, TO	1	2.5
<i>IX</i>	12	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, AK, CIP, TE, SXT, LEV	1	2.5
<i>X</i>	12	CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, GN, AK, CIP, TE, STX, LEV	1	2.5
<i>XI</i>	13	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, GN, AK, CIP, SXT, LEV, TO	3	7.5
<i>XII</i>	14	FEP, CAZ, CRO, CTX, MER, IMP, TIM, GN, TE, AK, CIP, STX, LEV, TO.	10	25

β-lactámicos: meropenem (MEP), imipenem (IMP), ticarcilina/ac.clavulánico (TIM), Ceftriaxona (CRO), Ceftazidima (CAZ), Cefotaxima (CTX), Cefepime (FEP); Aminoglucósidos: amikacina (AK), gentamicina (GN), tobramicina (TO); Quinolonas: ciprofloxacina (CIP), levofloxacino (LVX); tetraciclinas (TET); Sulfamidas: trimetoprim/sulfametoxazol (SXT).

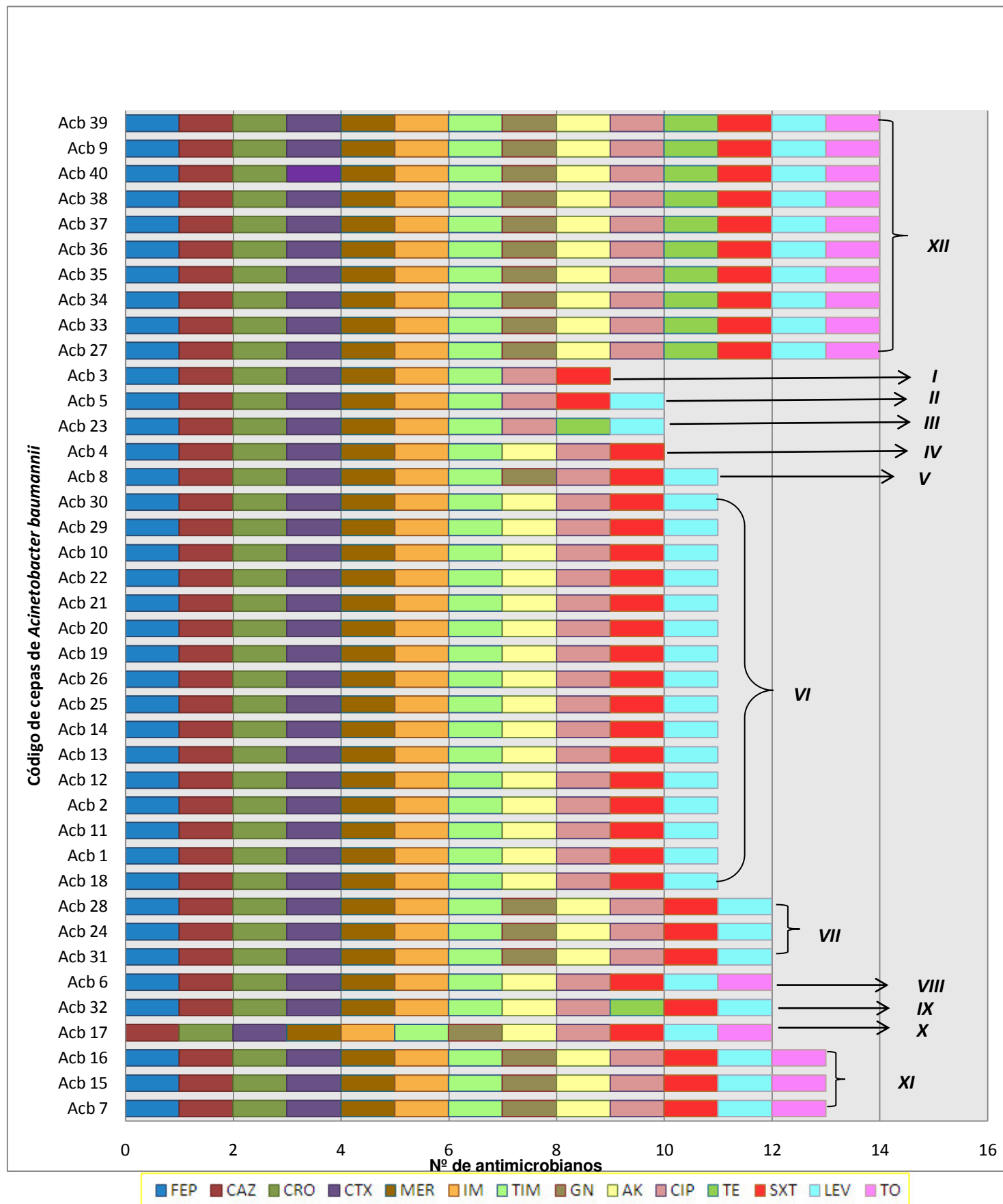


Figura Nº 08. Antibiotipos de resistencia de cepas de *Acinetobacter baumannii* según el número de antimicrobianos

Los resultados del comportamiento de la resistencia antimicrobiana de las cepas estudiadas, distribuidas por servicio de hospitalización, se muestran en la Tabla N° 20 y Figura N° 09. El servicio de Unidad de Cuidados Intensivos (U.C.I) presentó el mayor número de antibiotipos, de los cuales el antibiotipo VI estuvo presente en cinco cepas (12.5%), seguido del antibiotipo XI, presente en dos cepas (5%) y los antibiotipos XII, III, VII y VIII solo estuvieron presentes en una cepa cada una (2.5%). En los servicios de Medicina Interna 1, 2 y 5, Neurocirugía, Reumatología, Emergencia Adulta y Clínica Pediátrica estuvo presente principalmente el antibiotipo XII (2.5-5%) a comparación del VI, presente en los dos servicios de medicina, Dermatología, Pediatría y en las áreas de Cirugía principalmente (2.5-5%). Los antibiotipos VI y XII aparecieron en dos servicios no identificados.

Tabla N° 20. Antibiotipos observados en cepas de *A. baumannii* aisladas de pacientes(n:40) según el área de hospitalización

Servicio de Hospitalización	Antibiotipos de Resistencia	Número de cepas	%
UCI*	VI	5	12.5
	XII	1	2.5
	III	1	2.5
	XI	2	5.0
	VII	1	2.5
	VIII	1	2.5
Med. Interna 1	VI	2	5.0
	X	1	2.5
	IV	1	2.5
	XII	1	2.5
Med. Interna 2	VI	2	5.0
	I	1	2.5
	XII	1	2.5
	IX	1	2.5
Med. Interna 5	XII	2	5.0
	VII	1	2.5
Cirugía General 5	XI	1	2.5
	II	1	2.5
	VI	2	5.0
Cirugía general 2	VI	1	2.5
Cirugía maxilo-facial	VI	1	2.5
Neumología	V	1	2.5
	VII	1	2.5
Dermatología	VI	1	2.5
Emergencia Adulta	XII	1	2.5
Neurocirugía	XII	1	2.5
Reumatología	XII	1	2.5
Clin. Pediátrica	VI	1	2.5
	XII	1	2.5
No identificado	VI	1	2.5
No identificado	XII	1	2.5

*UCI: Unidad de cuidados intensivos

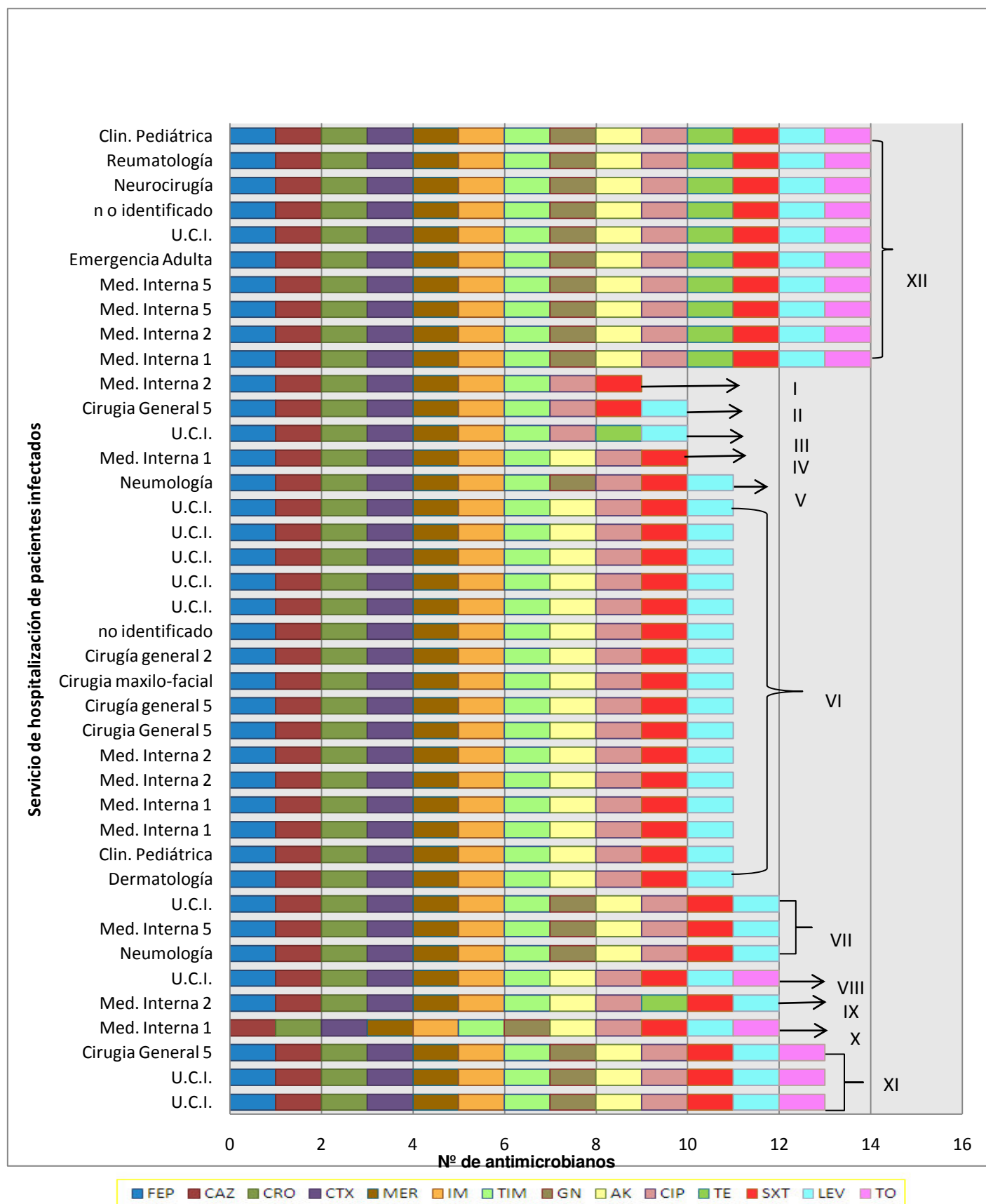


Figura Nº 09. Antibiotipos de resistencia de cepas de *Acinetobacter baumannii* encontrados en los servicios de hospitalización.

3. Perfil plasmídico antes de la curación

En 38 cepas de *A. baumannii* fue posible detectar alguna clase de plásmido, lo que representó el 95% del total de las mismas.

El perfil plasmídico de cada una de las cepas se asignó arbitrariamente desde P1-P31, tomando en cuenta el número y tamaño de las bandas plasmídicas presentes en las mismas. Los resultados del análisis revelaron que la mayoría de las cepas presentaron una banda común de 23,130; 9,416 y 2,027 pb, aproximadamente.

En la Tabla N° 21, se muestra la distribución y frecuencia relativas de los plásmidos encontrados. El número de bandas plasmídicas osciló entre 2 y 8, y su peso molecular oscilaron entre 1,240 - 55,459 pb aproximadamente (Figura N° 10). Se obtuvieron 31 perfiles plasmídicos, siendo el más predominante el perfil P1, con bandas de tamaño que oscilan entre 23,130 y 9,416 pb, seguido del perfil P9 (25,625:23,130:9,416:2,361 pb).

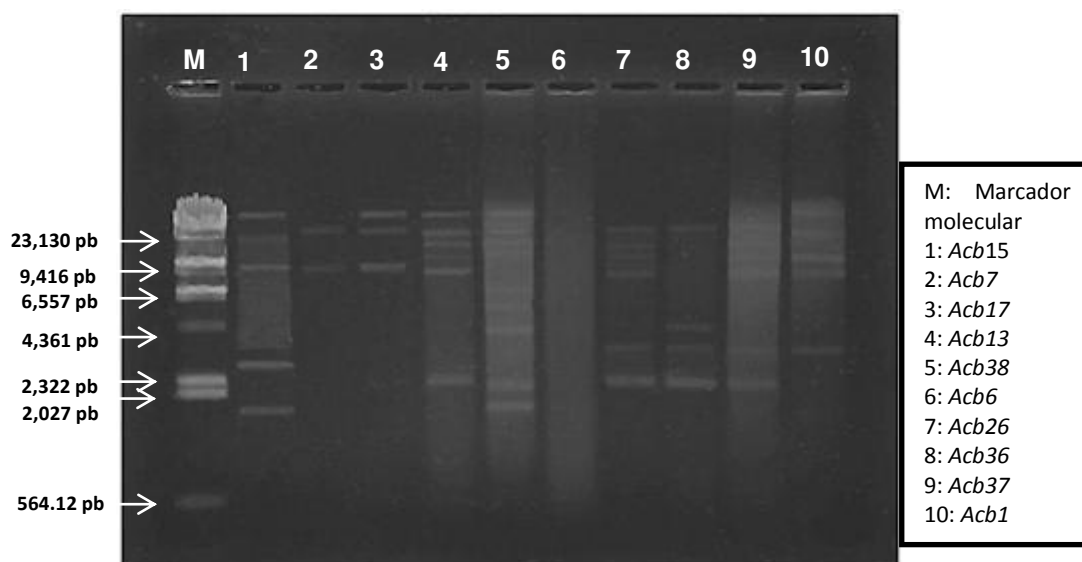


Figura N° 10: Plásmidos de cepas de *A. baumannii* de origen clínico aisladas del HNGAI.

Tabla N° 21. Perfil plasmídico de cepas de *A. baumannii* (n=38)

Perfil Plasmídico	N° de cepas	Cepa	Tamaño en pares de bases (pb) de plásmidos *
P1	3	<i>Acb 30</i>	23,130:9,416
		<i>Acb19</i>	23,130:9,416
		<i>Acb7</i>	23,130:9,416
P2		<i>Acb20</i>	55,459:32,542
P3		<i>Acb10</i>	23,130:9,416:2,027
P4		<i>Acb39</i>	24,046:11,721:8,357
P5		<i>Acb35</i>	55,459 :25,336:23,130
P6	2	<i>Acb 8</i>	14,255:9,416:3,439:2,227
		<i>Acb12</i>	14,255:9,416:3,439:2,227
P7		<i>Acb36</i>	23,130:4,361:3,298:2,322
P8		<i>Acb5</i>	23,130:18,102:10,168:6,112
P9	3	<i>Acb28</i>	25,625: 23,130:9,416:2,361
		<i>Acb22</i>	25,625:23,130:9,416:2,361
		<i>Acb17</i>	25,625:23,130:9,416:2,361
P10		<i>Acb 2</i>	25,625:23,130:2,962:2,361
P11		<i>Acb23</i>	29,706:24,046:17,147:8,358
P12		<i>Acb34</i>	35,178:24,046:11,721:2,785
P13		<i>Acb 21</i>	39,366:23,130:4,361:2,416
P14		<i>Acb31</i>	39,366:29,345:23,130:15,527
P15		<i>Acb29</i>	41,151:29,626:19,417:12,726
P16		<i>Acb27</i>	55,823:4,361:2,027:1,825
P17		<i>Acb15</i>	24,046:23,130:9,416:2,785:1,825
P18		<i>Acb3</i>	25,625:23,130:9,416:3,298:2,027
P19		<i>Acb1</i>	25,625:23,130:12,755:9,416:3,298
P20	2	<i>Acb25</i>	34,106:26,971:9,416:5,978:2,027
		<i>Acb4</i>	34,106:26,971:9,416:5,978:2,027
P21		<i>Acb 11</i>	36,915:25,625:19,482:9,416:2,027
P22		<i>Acb16</i>	55,823:23,130:10,393:3,439:2,027
P23	2	<i>Acb 26</i>	23,130:15,104:13,155:9,416:3,298:2,322
		<i>Acb37</i>	23,130:15,104:13,155:9,416:3,298:2,322
P24		<i>Acb32</i>	24,046:11,721:8,358:5,713:2,785:1,903
P25		<i>Acb13</i>	25,625:23,130:17,147:13,155:9,416:2,322
P26		<i>Acb14</i>	28,438:23,130:9,416:8,998:5,589:2,361
P27		<i>Acb18</i>	43,129:16,867:11,586:4,977:2,834:2,027
P28		<i>Acb24</i>	34,106:26,971:23,428:16,867:14,651:3,419:2,027
P29		<i>Acb 33</i>	55,459:29,345:23,130:9,416:6,557:2,416:2,027
P30		<i>Acb38</i>	25,625:23,130:17,147:13,155:6,557:3,298:2,027:1,825
P31		<i>Acb9</i>	36,915:23,130:18,102:6,557:6,112:4,068:2,027:1,240

*Aproximados

Al realizar el análisis de los perfiles plasmídicos, se observó que los servicios que presentaron mayor número de perfiles fueron: en el caso de los perfiles P2, P6, P25, P27, P10, P22, P1, P7, P11 y P9, estuvieron presentes en los servicios de UCI, los perfiles P15, P23, P18, P24 y P29 estuvieron representados por cepas del servicio de Medicina Interna 2, mientras que los servicios de Medicina Interna 1 y Cirugía General 5 presentaron tres perfiles a comparación del servicio de Medicina Interna 5 y Neumología donde se observó 3 y 2 perfiles, respectivamente (Tabla N° 22).

De las cepas que presentaron resistencia a seis a más antimicrobianos 38 de 40 presentaron plásmidos, solo el 5 % (2 cepas) que no presentaron plásmidos tenían resistencia a doce y catorce antimicrobianos.

Al relacionar los fenotipos de resistencia mostrados por las cepas se encontró que los antibiótipos VI y XII se relacionan con la mayoría de los perfiles plasmídicos. En el área de UCI, se registraron 10 perfiles plasmídicos, de los cuales cinco le confieren un mismo antibiótipo de resistencia, que se encuentra presente en la mayoría de áreas.

Algunos perfiles plasmídicos se reportaron en diferentes áreas, como es el caso del perfil P1, P6, P20 y P23 presentando dos antibiótipos, teniendo en común el antibiótipo VI, y difiriendo del otro.

Tabla N° 22. Perfiles plasmídicos y antibiotipos de las cepas de *A. baumannii* aisladas de los servicios de hospitalización

Servicio de Hospitalización	Perfil Plasmídico	Antibiotipo	Cepa
UCI*	P2,P6,P25,P27,P10	VI	<i>Acb20,Acb12, Acb13,Acb18,Acb2</i>
	P22,P1	XI	<i>Acb16,Acb7</i>
	P7	XII	<i>Acb36</i>
	P11	III	<i>Acb23</i>
	P9	VII	<i>Acb28</i>
Med. Interna 1	P3,P26	VI	<i>Acb10,Acb14</i>
	P9	X	<i>Acb17</i>
	P20	IV	<i>Acb4</i>
Med. Interna 2	P15,P23	VI	<i>Acb29,Acb26</i>
	P18	I	<i>Acb3</i>
	P24	IX	<i>Acb32</i>
	P29	XII	<i>Acb 33</i>
Med. Interna 5	P5,P16	XII	<i>Acb35,Acb27</i>
	P28	VII	<i>Acb24</i>
Cirugía General 5	P8	II	<i>Acb5</i>
	P17	XI	<i>Acb15</i>
	P1,P13	VI	<i>Acb19,Acb21</i>
Cirugía General 2	P20	VI	<i>Acb25</i>
Cirugía Maxilo- Facial	P9	VI	<i>Acb22</i>
Neurocirugía	P30	XII	<i>Acb38</i>
Neumología	P14	VII	<i>Acb31</i>
	P6	V	<i>Acb 8</i>
Clínica Pediátrica	P4	XII	<i>Acb39</i>
	P21	VI	<i>Acb 11</i>
Emergencia Adulta	P12	XII	<i>Acb34</i>
Dermatología	P19	VI	<i>Acb1</i>
Reumatología	P31	XII	<i>Acb9</i>
NID*	P1	VI	<i>Acb 30</i>
	P23	XII	<i>Acb37</i>

*NID: no identificado. *UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

4. Curación de cepas de *Acinetobacter baumannii*

En la Tabla N° 23 se establece el porcentaje de EtBr que se utilizó en la prueba de curación de plásmidos: 300 µg/ml fue la concentración más alta en la cual se manifestó la pérdida de la resistencia a los antibióticos (Figura N° 11).

Tabla N° 23. Estandarización del porcentaje de bromuro de etidio (EtBr) para la curación de plásmidos de cepas de *A. baumannii*

Concentración de EtBr (µg/ml)	Concentración de EtBr (%)	<i>Acb19</i>	<i>Acb40</i>
70	0.007	+	+
80	0.008	+	+
90	0.009	+	+
100	0.01	+	+
150	0.015	+	+
200	0.02	+	+
250	0.025	+	+
300	0.03	+	+
350	0.035	*	-
400	0.04	*	-
500	0.05	-	-
600	0.06	-	-
700	0.07	-	-

Crecimiento de una cepa de *A. baumannii* utilizada para estandarizar la concentración de EtBr para la curación. La fila marcada indica la concentración elegida. Normal crecimiento (+), Poco crecimiento (*), Nulo crecimiento (-).

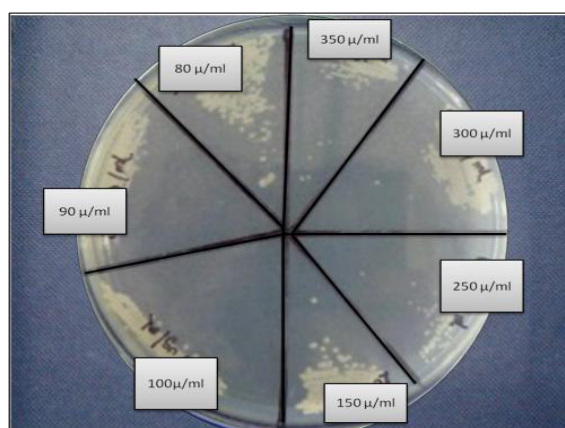
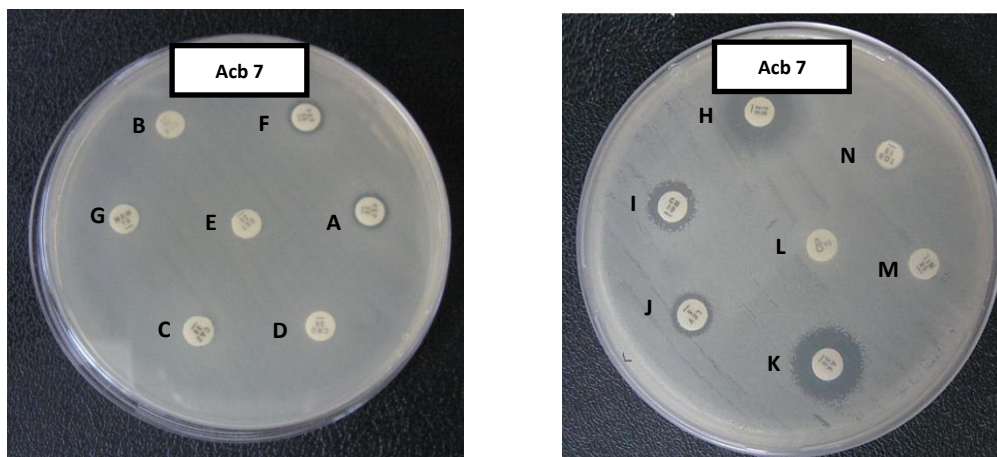


Figura N°11. Crecimiento de *Acinetobacter baumannii* en Agar Nutricio, luego de la incubación por 24h a 37°C en diferentes concentraciones de EtBr.

Todas las cepas resistentes en estudio, luego de haber sido curadas con EtBr a 300 $\mu\text{g/ml}$, exhibieron susceptibilidad hacia los antibióticos a los que previamente mostraron resistencia (Figura N° 12 y Figura N° 13).

ANTES DE LA CURACIÓN



DESPUÉS DE LA CURACIÓN

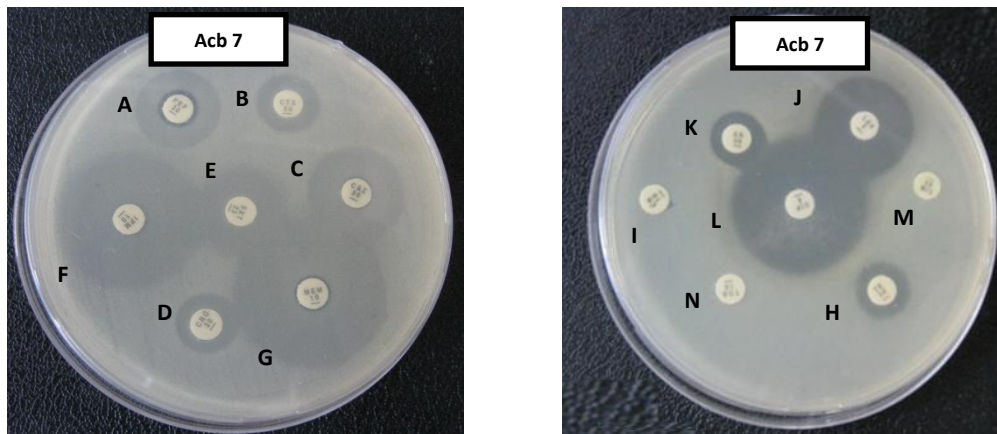


Figura N° 12: Antibiógrama antes y después de la curación. A: Cefepime, B:cefotaxima,C:ceftazidima,D:ceftriaxona,E:sulfatrimetoprim,F:Imipene,G:Meropem, H:Tetraciclina,I:gentamicina,J:Levofloxacino,K:Amikacina,L:Ciprofloxacino,M:ticar./ac. clavulanico, N:Tobramicina.

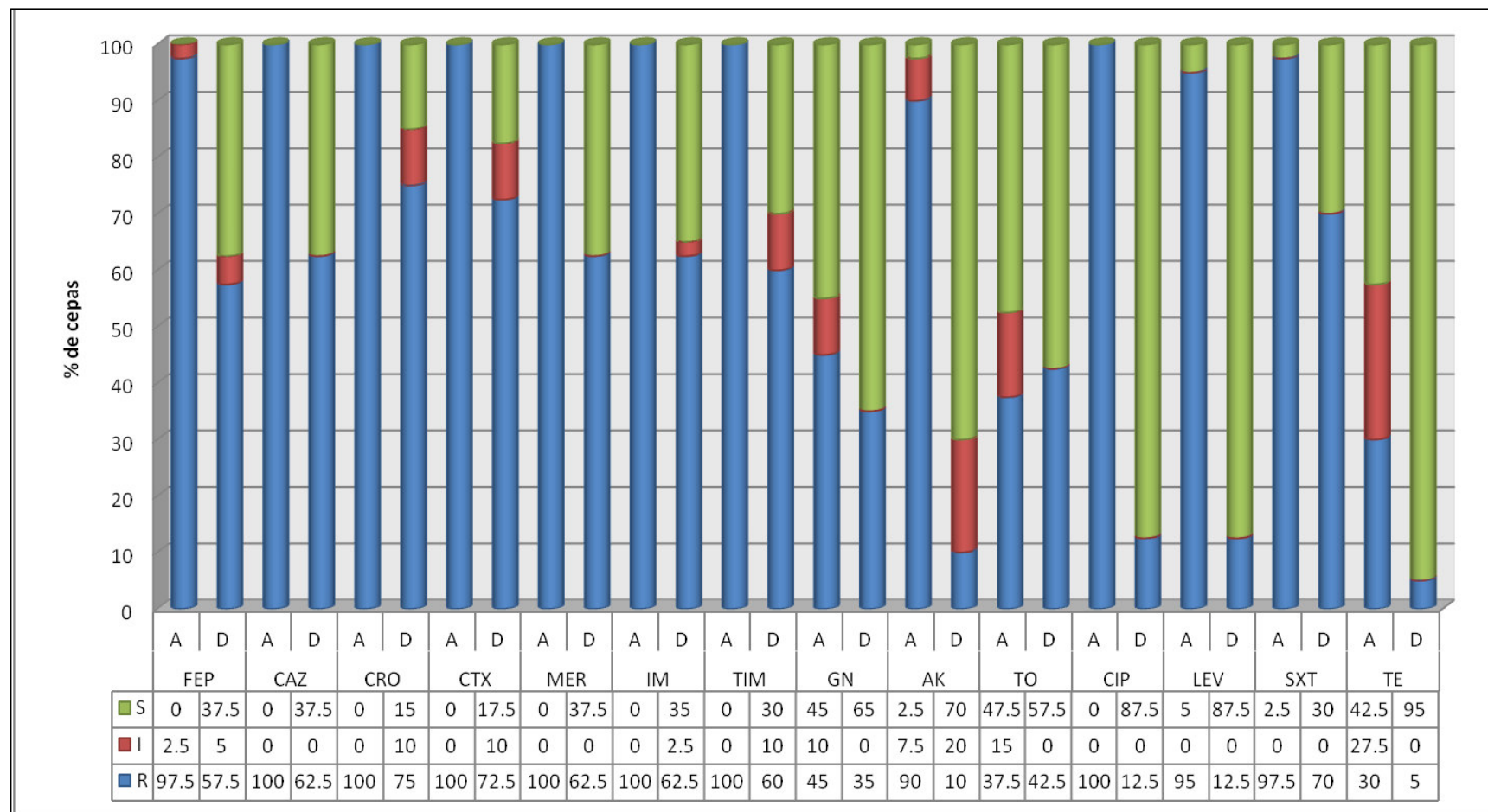


Figura N° 13. Porcentaje de Sensibilidad antimicrobiana antes y después de la curación con EtBr (300 µg/ml). A: Antes de la curación; D: Después de la curación, R: Resistente; I: Intermedio; S: Sensible

5. Perfil Plasmídico post – curación

El curado de plásmidos con bromuro de etidio a una concentración de 300 ug/ml fue parcialmente eficiente (Figura N° 14), debido a que fenotípicamente se observó que la cepas a esa concentración se curaban, pero al realizarse la extracción de plásmidos, se evidencian aún bandas pero en menor número, por lo que probablemente, el agente curador solo permitió la pérdida de plásmidos de menor tamaño molecular, evidenciado así la pérdida de la resistencia de algunos antibióticos, quedando la probabilidad que la resistencia a los demás, se encuentre codificada en los otros plásmidos de mayor tamaño o en el cromosoma (Tabla N° 24).

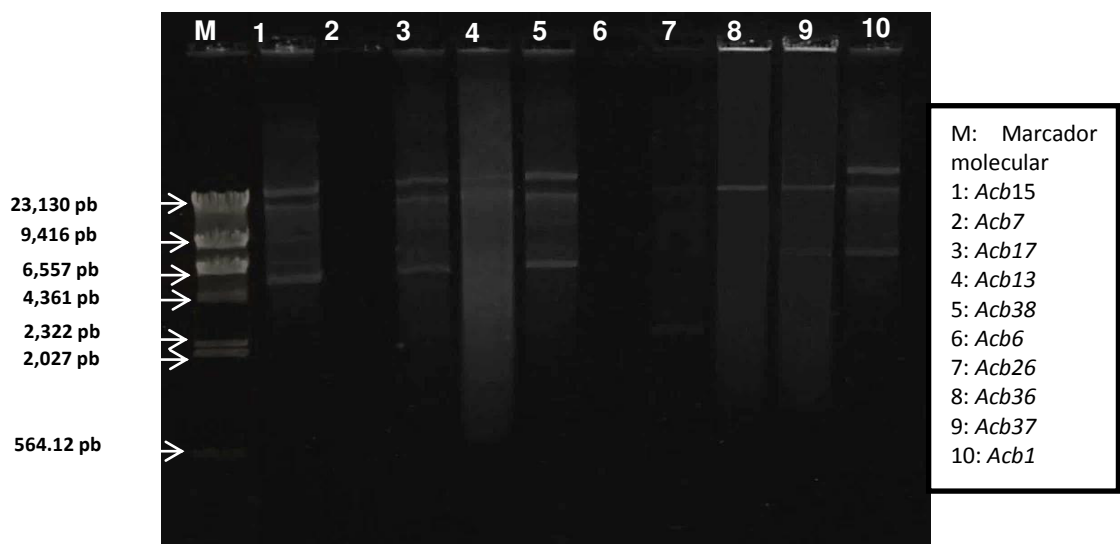


Figura N° 14: Plásmidos de cepas de *A. baumannii* de origen clínico después de la curación con EtBr.

Tabla N° 24. Perfil plasmídico de cepas *A. baumannii* curadas con EtBr (300 µg/ml)

Perfil Plasmídico	Cepa	Tamaño en pares de bases (kb) de plásmidos y sus diferentes estados conformacionales*		Resistencia perdida
		Antes	Después	
P1	<i>Acb30</i>	23,130:9,416	9,416	AK,CIP,LEV
	<i>Acb19</i>	23,130:9,416	23,130	FEP,CAZ,MER,TIM,AK,CIP,TE,SXT,LEV
	<i>Acb7</i>	23,130:9,416	-	GN,CIP,TE,LEV
P2	<i>Acb20</i>	55,459:32,542	9,416	CIP,TE,LEV
P3	<i>Acb10</i>	23,130:9,416:2,027	23,130	FEP,CAZ,CTX,CRO,MER,IMP,CIP,LEV,TIM,AK
P4	<i>Acb39</i>	24,046:11,721:8,357		GN,CIP,TE,SXT
P5	<i>Acb35</i>	55,459 :25,336:23,130	55,459:25,336	GN,CIP,TE,LEV
P6	<i>Acb 8</i>	14,255:9,416:3,439:2,227	9,416	FEP,CAZ,MER,IMP,GN,AK,CIP,SXT,LEV
	<i>Acb12</i>	14,255:9,416:3,439:2,227		FEP,CAZ,CRO,CTX,MER,IMP,TIM, ,AK,CIP
P7	<i>Acb36</i>	23,130:4,361:3,298:2,322	23,130	AK,CIP,LEV,TE
P8	<i>Acb5</i>	23,130:18,102:10,168:6,112	9,416	CIP,LEV
P9	<i>Acb28</i>	25,625: 23,130:9,416:2,361	23,130	CIP,TE,,LEV
	<i>Acb22</i>	25,625:23,130:9,416:2,361	25,625:23,130:5,978	AK,TO,TE
	<i>Acb17</i>	25,625:23,130:9,416:2,361	25,625:23,130:6,267	CTX,CAZ,FEP,CRO,TIM,MER,IMP,CN,AK,CIP,LEV
P10	<i>Acb 2</i>	25,625:23,130:2,962:2,361	25,625:23,130:9,416:5,978	FEP,CAZ,CRO,CTX,MER,IMP,TIM,AK,CIP,SXT,LEV
P11	<i>Acb23</i>	29,706:24,046:17,147:8,358	9,416	CIP,TE,LEV
P12	<i>Acb34</i>	35,178:24,046:11,721:2,785	49,411	GN,CIP,TE,LEV
P13	<i>Acb21</i>	39,366:23,130:4,361:2,416	9,416	CIP,TE,,LEV
P14	<i>Acb31</i>	39,366:29,345:23,130:15,527	9,416	AK,CIP,TE
P15	<i>Acb29</i>	41,151:29,626:19,417:12,726	9,416	FEP,CAZ,MER,IMP,GN,AK,CIP,SXT,TO,LEV

*aproximado

Tabla N° 24. Perfil plasmídico de cepas *A. baumannii* curadas con EtBr (300 µg/ml) (Continuación)

Perfil Plasmídico	Cepa	Tamaño en pares de bases (kb) de plásmidos y sus diferentes estados conformacionales *		Resistencia perdida
		Antes	Después	
P16	<i>Acb27</i>	55,823:4,361:2,027:1,825	55,823:9,416	TO,LE,CIP,AK
P17	<i>Acb15</i>	24,046:23,130:9,416:2,785:1,825	24,046:23,130:9,416:6,267	GN,TO,TE
P18	<i>Acb3</i>	25,625:23,130:9,416:3,298,2,027	25,625:23,130:9,416:5,978	CTX, CRO, CAZ, TIM, MEM, IMP, FEP, GN, AK, CIP, TO
P19	<i>Acb1</i>	25,625:23,130:12,755:9,416:3,298	25,625:23,130:7,245	AK, CIP,LEV
P20	<i>Acb25</i>	34,106:26,971:9,416:5,978:2,027	23,130	FEP,CAZ,MER,IMP,AK,CIP,TE,SXT,LEV
	<i>Acb4</i>	34,106:26,971:9,416:5,978:2,027	25,625:23,130:9,416:5,978	FEP,CAZ,CRO,CTX,MER,IMP,TIM,AK,CIP,SXT
P21	<i>Acb11</i>	36,915:25,625:19,482:9,416:2,027	25,625:23,130:9,416:5,978	FEP,CAZ,MER,IMP,TIM,AK,CIP,LEV
P22	<i>Acb16</i>	55,823:23,130:10,393:3,439:2,027	55,823:9,416	AK,CIP,LEV
P23	<i>Acb26</i>	23,130:15,104:13,155:9,416:3,298:2,322	23,130:2,322	AK,TE,LEV
	<i>Acb37</i>	23,130:15,104:13,155:9,416:3,298:2,322	23,130:7,245	AK,CIP,TE,LEV
P24	<i>Acb32</i>	24,046:11,721:8,358:5,713:2,785:1,903	9,416	CIP,TE,LEV
P25	<i>Acb13</i>	25,625:23,130:17,147:13,155:9,416:2,322	25,625:23,130	FEP,CAZ,MER,IMP,TIM,CIP,CN,LEV,AK,STX
P26	<i>Acb14</i>	28,438:23,130:9,416:8,998:5,589:2,361	23,130:5,978	CIP,LEV
P27	<i>Acb18</i>	43,129:16,867:11,586:4,977:2,834:2,027	49,411:9,416	AK,TE,LEV
P28	<i>Acb24</i>	34,106:26,971:23,428:16,867:14,651:3,419:2,027	9,416	CIP,LEV
P29	<i>Acb33</i>	55,459:29,345:23,130:9,416:6,557:2,416:2,027	9,416	AK,CIP,TE,LEV
P30	<i>Acb38</i>	25,625:23,130:17,147:13,155:6,557:3,298:2,027:1,825	25,625:23,130:6,267	FEP,CAZ,CRO,CTX,MER,IMP,TIM,GN,AK,CIP,TE,LEV,TO
P31	<i>Acb9</i>	36,915:23,130:18,102:6,557:6,112:4,068:2,027:1,240	9,416	CAZ,MER,IMP,GN,CIP,SXT,TE,LEV

*aproximado

6. Prevalencia de *Acinetobacter baumannii*

Entre los meses de Enero-Diciembre del 2012 se aislaron 1495 bacterias Gram negativas, de las cuales, 7.42% (111casos) fueron *Acinetobacter baumannii* (Tabla N° 25), observándose un incremento del número de casos a través del tiempo; del 1% en el 2006 a un 3% en el 2008, luego a 6.75% en el 2011 hasta un 7.42% para el 2012 (Figura N° 15).

Tabla N° 25. Prevalencia de microorganismos Gram negativos aislados en pacientes hospitalizados entre Enero-Diciembre del 2012 en el HNGAI.

Microorganismo	N°	%
<i>Escherichia coli</i>	740	49.50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	264	16.66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	236	15.79
<i>Acinetobacter baumannii</i>	111	7.42
<i>Citrobacter freundii</i>	41	2.74
<i>Enterobacter cloacae</i>	59	3.95
<i>Proteus mirabilis</i>	44	2.94
Total	1495	100

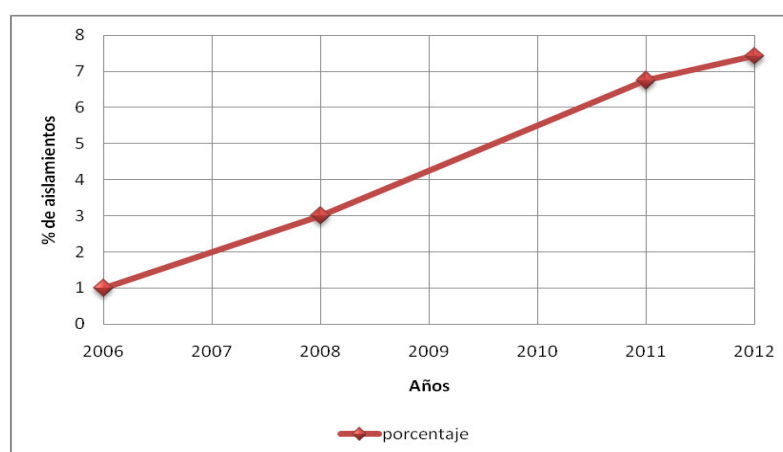


Figura N° 15. Frecuencia de *A. baumannii* por años en el HNGAI

➤ **Según el servicio de hospitalización**

En el período de estudio se aislaron cepas de *A. baumannii*, a partir de muestras clínicas provenientes de 24 servicios del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen-ESSALUD; la mayor frecuencia de aislamiento (33.6%) se obtuvo en la unidad de cuidados intensivos (UCI), seguidos del servicio de Medicina Interna 1 (9.48%) y cirugía general 5 (8.62%) (Tabla N° 26).

Tabla N° 26. Distribución de cepas de *A. baumannii* aisladas de diferentes servicios del HNGAI

Servicio de Hospitalización	N°	%
Anatomía Patológica	3	2.59
B62 y B63	2	1.72
Cardiología	2	1.72
Cirugía de tórax	1	0.86
Cirugía General 2	2	1.72
Cirugía General 3	2	1.72
Cirugía General 4	2	1.72
Cirugía General 5	10	8.62
Cirugía maxilo-facial	1	0.86
Cirugía plástica	1	0.86
Clínico pediátrica	4	3.45
Dermatología	2	1.72
Emergencia adulto	2	1.72
Endocrinología	1	0.86
Gastroenterología	1	0.86
Geriatría	2	1.72
Medicina interna 1	11	9.48
Medicina interna 2	7	6.03
Medicina interna 3	2	1.72
Medicina interna 5	5	4.31
Nefrología	2	1.72
Neumología	4	3.45
Neurocirugía	1	0.86
Obstetricia	1	0.86
Odontología	1	0.86
Ortopedia-Traumatología	2	1.72
Reumatología	2	1.72
Transplante de hígado	1	0.86
Unidades de Cuidados Intensivos	39	33.62
TOTAL	116	100.00

➤ **Según el origen de la muestra**

Las fuentes de origen de las cepas fueron diversas, y el mayor número de ellas se recuperó desde muestras provenientes de hemocultivo y de tracto respiratorio, con frecuencias de 13.28 y 47.66 %, respectivamente. Dentro de las muestras respiratorias, tenemos que el 1.6% provienen de esputo, 32.8% de aspirados bronquiales, 61% de aspirado endotraqueal y 5% de lavados bronquiales (Figura N° 16).

Con respecto a los líquidos biológicos, que representa el 9.38%, tenemos que el 66.6% provienen de líquido peritoneal, y el 16.6% de líquido biliar y ascítico respectivamente.

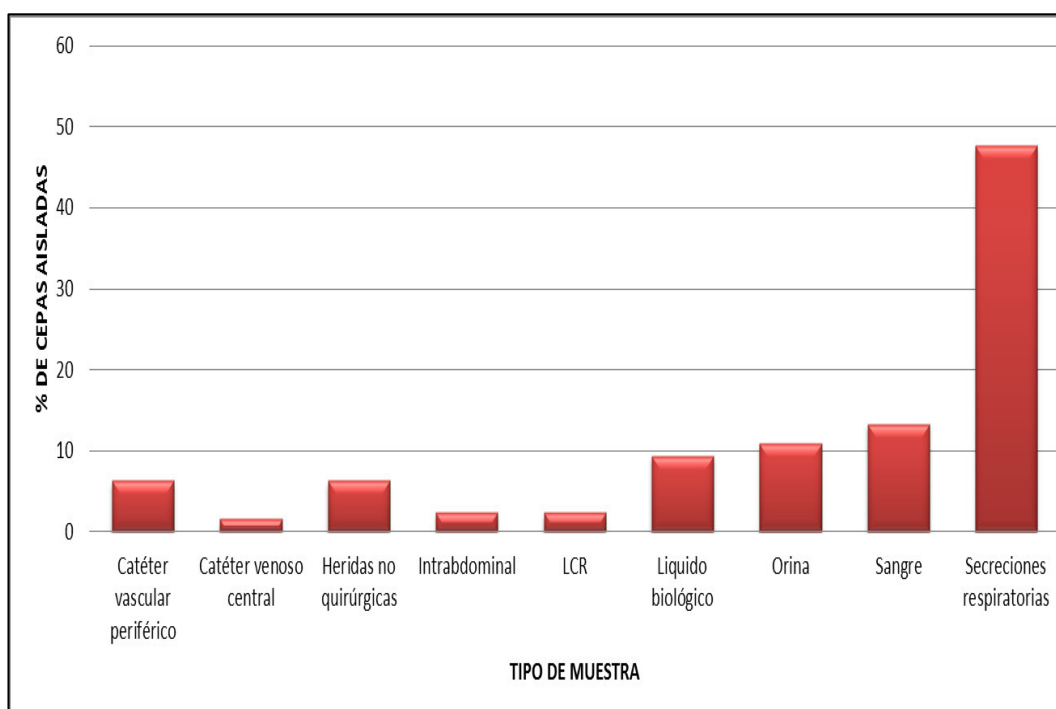


Figura N° 16: Fuentes de origen de las cepas aisladas de *A. baumannii*

➤ **Según el sexo y la edad de los pacientes**

El 50.45 % (56) fueron del sexo femenino y el 49.55 % (55) fueron del sexo masculino (Figura N° 17), por lo que la distribución entre ambos sexos es similar.

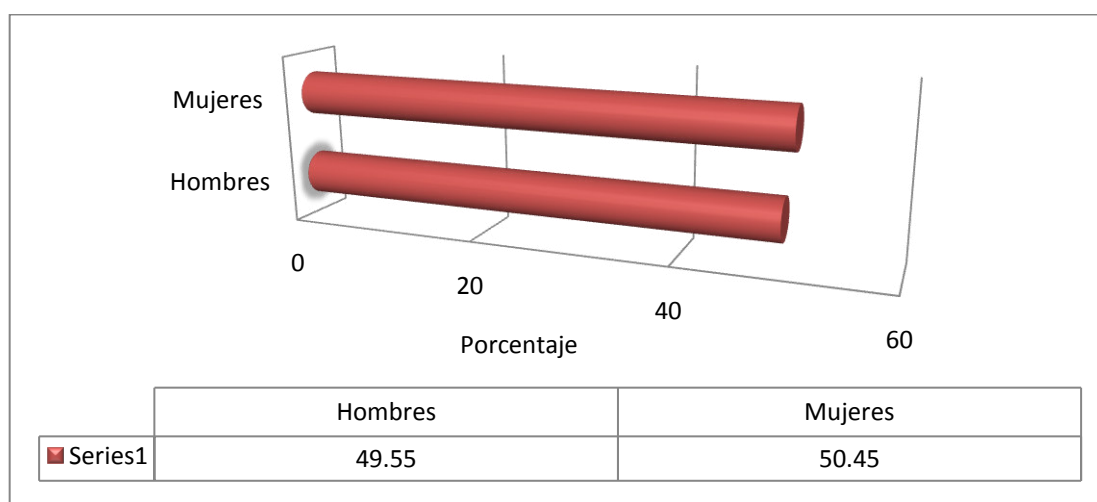


Figura N° 17: Distribución de las cepas de *A. baumannii* aisladas de pacientes hospitalizados según el sexo

La edad media de los pacientes fue 62.314 ± 19.745 (Figura N° 18). Las cepas de *Acinetobacter baumannii* fueron más frecuentes en los pacientes entre las edades de 63 y 80 años (22.52 y 21.52%). En el sexo femenino se presentaron mayormente en el grupo etáreo de 63-72 años (25%), así mismo en el sexo masculino se presentaron en el grupo etáreo de 72-81 años (23.64%). Se halló un caso del sexo masculino menor de nueve años (Tabla N° 27).

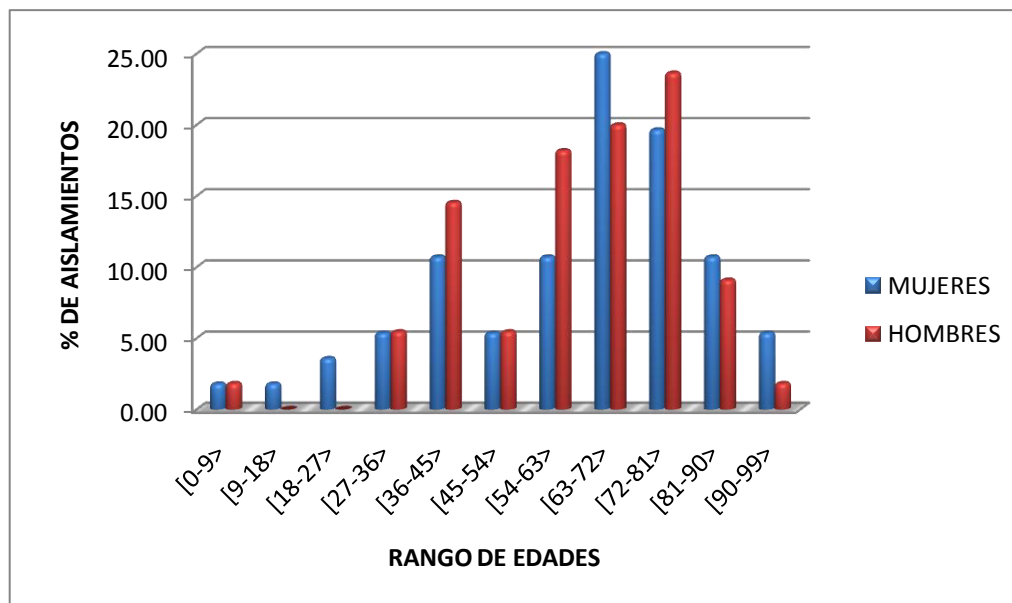


Figura N° 18. Frecuencia de aislamiento de *A. baumannii* en pacientes según edad y sexo.

Tabla N° 27. Distribución de los pacientes según edad y sexo con *A. baumannii* aisladas

Grupos etáreos	Sexo				Total		Chi cuadrado
	Femenino		Masculino				p
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	5.8948 0.82043
[0-9>	1	1.79	1	1.82	2	1.80	
[9-18>	1	1.79	0	0.00	1	0.90	
[18-27>	2	3.57	0	0.00	2	1.80	
[27-36>	3	5.36	3	5.45	6	5.41	
[36-45>	6	10.71	8	14.55	14	12.61	
[45-54>	3	5.36	3	5.45	6	5.41	
[54-63>	6	10.71	10	18.18	16	14.41	
[63-72>	14	25.00	11	20.00	25	22.52	
[72-81>	11	19.64	13	23.64	24	21.62	
[81-90>	6	10.71	5	9.09	11	9.91	
[90-99>	3	5.36	1	1.82	4	3.60	
TOTAL	56	100.00	55	100.00	111	100.00	

➤ **Según los factores de comorbilidad**

En cuanto a los factores de comorbilidad de los pacientes asociados a la infección (Tabla N° 28), nuestra investigación permite afirmar que los estados de inmunosupresión, ocasionada generalmente por haber sido sometido a cirugía o enfermedades base como cáncer, insuficiencia hepática crónica, insuficiencia renal y enfermedad pulmonar crónica obstructiva (EPOC); fueron las más frecuentes.

Tabla N° 28. Relación entre factores predisponentes del paciente y presencia de *Acinetobacter baumannii* .

Comorbilidad	Número de pacientes	
	N°	%
Sin comorbilidad	20	16.67
Cáncer	14	11.67
Gestación	2	1.67
Lupus eritematoso	1	0.83
Cirrosis hepática alcohólica + transplante de hígado	3	2.50
diabetes mellitus	3	2.50
VIH + TBC	1	0.83
Tuberculosis	2	1.67
Insuficiencia renal crónica	9	7.50
Desviación ventricular peritoneal	1	0.83
Cirugía	36	30.00
Artritis reumatoide	1	0.83
Malformación arteriovenosa (MAC)	2	1.67
Insuficiencia cardíaca crónica	1	0.83
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica(EPOC)	3	2.50
aborto	1	0.83
droga	1	0.83
Hernia	2	1.67
Síndrome de Cushing	1	0.83
Esquizofrenia	1	0.83
Insuficiencia hepática crónica	1	16.67
Síndrome de Guillain Borre	1	0.83
NID	13	10.83
TOTAL	120	100.00

NID: no identificado.

➤ Según la mortalidad

El porcentaje de mortalidad en los casos fue del 56.41% (Figura N° 19). El 44% se encontraba hospitalizado en el servicio de UCI, presentaba Unidades Formadoras de colonias (UFC) $>10^6$, los aislamientos del microorganismo se encontraron principalmente en secreciones respiratorias (48), hemocultivos (6), líquido biológico (L. Peritoneal (n=4) y L. Ascítico (n=1)), seguido de muestras de Orina (3), Herida no quirúrgica (2) y una sola muestra de LCR y Catéter Vascular Periférico respectivamente.

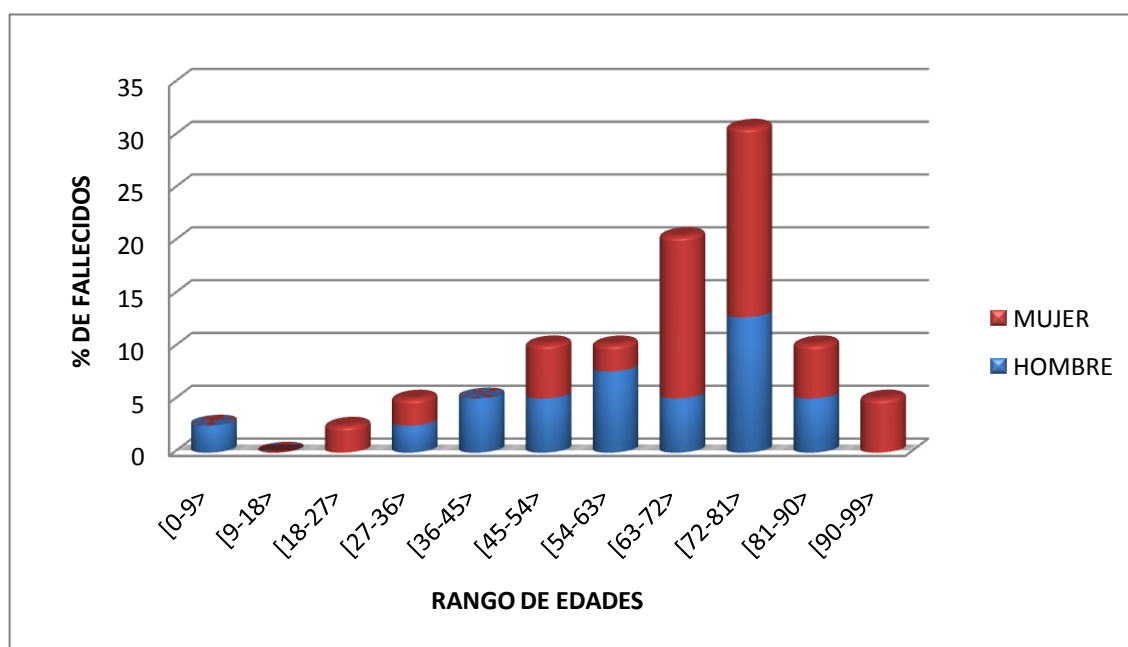


Figura N° 19. Frecuencia de fallecidos a los que se aisló *A. baumannii* según el sexo y la edad.

➤ Según la estacionalidad.

Conforme a la distribución de los casos, según las estaciones, se observó una curva ascendente conforme comienza el verano, en la transición con el otoño es que la curva describe su pico más alto, y esto se relaciona con los cambios ambientales, como lo son, el aumento de la humedad relativa y descenso de temperaturas. Se observa un segundo pico en el mes de mayo, el cual disminuye hasta el comienzo del invierno, en Junio. Posteriormente se observa el pico más alto en el invierno, en el mes de Junio,

en donde las condiciones de temperatura son las más bajas del año, así como los valores de humedad relativa son las más altas del año. La curva desciende en el equinoccio de primavera (Figura N° 20).

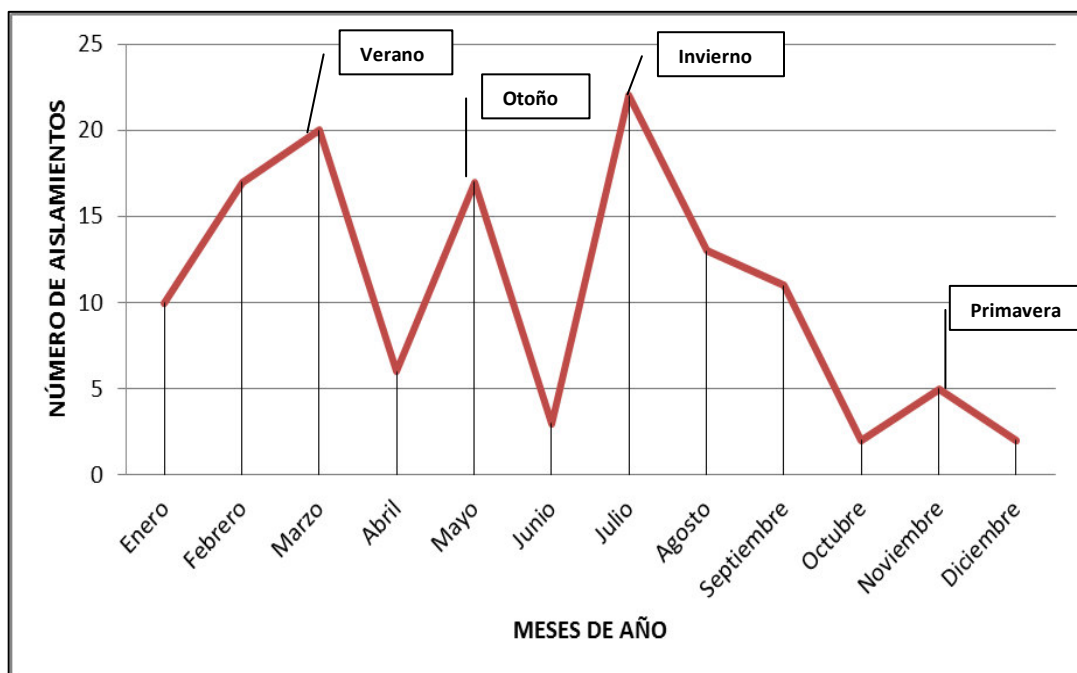


Figura N° 20. Aislamiento de *A. baumannii* según los meses del año

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

➤ Resistencia antimicrobiana de aislados intrahospitalarios de *A. baumannii*

Durante los últimos cinco años se ha reportado un aumento en la resistencia a la mayoría de los antibióticos de uso clínico, haciendo más difícil el tratamiento de las infecciones por cepas de *A. baumannii* causantes de brotes, en las áreas de UCIs principalmente, aunque en algunos países, se reportan infecciones en la comunidad, siendo así no exclusiva de ambientes hospitalarios Ramírez *et al.*, 2013; Kempf y Rolain, 2012).

Acinetobacter baumannii presenta resistencia a diferentes grupos de antibióticos, como a los β -lactámicos, aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclina (Medina, 2011), cloranfenicol y rifampicina (Zúñiga *et al.*, 2011).

En Argentina, Brasil, Chile y Colombia, entre los años 1997-2001, las tasas de resistencia en aislados de *A. baumannii* a meropenem, imipenem, ceftazidima, piperacilina-tazobactam, ciprofloxacina, gentamicina, están entre las más altas del mundo (Tognim, 2004). Para el 2003, el 17% presentaba resistencia a los carbapenems, 80% a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, 50% a las tetraciclinas y 32% a las quinolonas y aminoglucósidos, aumentando al 30% en el 2004, para los carbapenems (Unal y Garcia, 2005). En hospitales de diferentes niveles de complejidad en países de Europa, Asia, Suráfrica, Australia, Norteamérica y Latinoamérica en el 2010, se reportaron cepas de *A. baumannii* con una resistencia de 96% a la combinación de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas (piperacilina-tazobactam), a cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima, 98% y ceftriazona, 99,6%), así como resistencia a cefalosporinas de cuarta generación (cefepime, 96,1%) y, finalmente, a aminoglucósidos (amikacina, 64,5%) (Higgins *et al.*, 2010).

En el Perú, no existe un sistema permanente de vigilancia, por lo que no hay reportes actualizados y constantes sobre la resistencia de *A. baumannii*, sin embargo, los escasos reportes presentados entre el 2003 y 2011, mencionan una alta resistencia para cefalosporinas de tercera y cuarta generación (55-98%), carbapenems (10-82%), amikacina (58-61%), ciprofloxacino (62-87%), sulfametoxazol-trimetoprim (67-89%) (Informe de la OPS, 2003 y 2010; Informe del INS, 2011).

Nuestros datos son mayores a los reportes ya mencionados, incluso en Hospitales de Colombia, que presenta altas tasas de resistencia para los carbapenems del 60-79.3% (Chávez *et al.*, 2012), quinolonas 70%, cefalosporinas de tercera y cuarta generación 70% y aminoglucósidos 40%; sin embargo, se aproximan a los reportados en nosocomios en México, donde el 100% presentan resistencia para ampicilina, cefazolina, ceftriaxona, ceftazidima, Cefepime, aztreonam, ciprofloxacina, moxifloxacina, levofloxacina y nitrofurantoína y un 98% para trimetoprim-sulfametoxazol, a diferencia de los aminoglucósidos (amikacina 38%, gentamicina 28% y tobramicina 72%) y los carbapenems (imipenem, 20% y meropenem, 22%) (Ramírez *et al.*, 2013) que fue mayor en nuestra investigación en un 17 a 80%, excepto para tobramicina. Sin embargo en hospitales de China, se reporta resistencia de los aminoglucósidos (amikacina), en un 95% (Xu *et al.*, 2013).

En el análisis de resistencia antimicrobiana, entre el periodo 2004-2011, para el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, se ha observado a *Acinetobacter baumannii* como uno de los gérmenes con mayor porcentaje de resistencia, fundamentalmente para las cefalosporinas de tercera y cuarta generación con un 80% entre los años 2004-2006; 92% para los años 2008-2011, hasta un 100% en el 2012, a excepción de Cefepime que presentó una resistencia del 97.5% para este último año (Paz *et al.*, 2008; Estadística del Servicio de Microbiología del HNGAI, 2008 y 2011).

En los carbapenems, la resistencia para *A. baumannii* en el HNGAI ha aumentado al 100 %. Es un hecho alarmante en dicho nosocomio, debido a que en el lapso de siete años, la resistencia aumentó desde un 0% en el año 2004, a 20% en el 2005, luego a 40% en el 2006, 50-60% en el 2008 al 2010, hasta un 100% para el 2012, en comparación con el Hospital Arzobispo Loayza que presentó una baja resistencia desde el 2009 con un 0% a un 23% para el 2011 (Angles, 2009) al igual que el informe publicado por el Instituto Nacional de Salud (INS), que reporta una resistencia del 78-82% para imipenem y meropenem en los Hospitales de Lima para el 2011 (INS, 2011). Sin embargo los datos que hemos hallado se asemejan a los reportados por otros hospitales de Latinoamérica, donde la resistencia ha aumentado progresivamente en los últimos diez años, afectando a países como Argentina, Brasil, Chile y Colombia, presentándose resistencia del 50% y 70% (Bertrand y Dowzicky, 2012, Gales *et al.*, 2012). También se han visto afectados hospitales de otros continentes, como Europa y Norteamérica (Zarrilli *et al.*, 2009), en los Estados Unidos se incrementó la resistencia a esta familia de antibióticos de un 9% en 1995, 40% en 2004 (Muñoz y Weinstein, 2008) hasta un 50 % para el 2009 (Valentine *et al.*, 2008), en tanto que para Centroamérica y Sudamérica se ha reportado una resistencia por encima de 70 % (Organización Panamericana de la Salud, 2009).

En cuanto a los aminoglucósidos, más del 80% de cepas de *A. baumannii*, presentaron resistencia para amikacina, gentamicina y tobramicina entre los años 2004 al 2010 en el HNGAI. En el caso de la amikacina, hubo un aumento del 10% para el 2011, manteniéndose igual para el 2012, es así que en este estudio se encontró que la tasa de resistencia a la amikacina fue del 90%, mayor al reportado por Instituto Nacional de Salud (INS) que informa una resistencia del 58% para hospitales en Lima en el 2011 (INS, 2011). A comparación de la gentamicina y tobramicina que disminuyó en dicho nosocomio en un 14% y 44% respectivamente en un año. Caso similar presentó la Tetraciclina, que disminuyó en un 17% en un año, ya que la mayoría de

aislamientos presentan una sensibilidad intermedia a diferencia de otros países de latinoamerica que la resistencia se sigue incrementando.

Referente a la resistencia a las fluoroquinolonas, también se observó un aumento a través de los años, ciprofloxacina presentaba actividad moderada frente a *A. baumannii* (Brugueras, *et al.*2005), sin embargo, en el 2012, la resistencia fue del 100% para este antibiótico y un 95% para levofloxacina posiblemente esto se deba a que las cepas de *Acinetobacter baumannii* de dicho nosocomio presente un gen *qnr* en plásmidos favoreciendo así la diseminación de dicha resistencia. La probable presencia de este gen, significaría el tercer reporte a nivel mundial para esta especie, y la primera en Sudamérica.

Con respecto a sulfametoxazol-trimetoprim, la resistencia aumentó en un 87% en el 2011 a un 98% en el 2012, mayor en un 28% al reportado en Centroamérica y Sudamérica (Organización Panamericana de la Salud; 2009); la misma tendencia le siguió ticar /ac. clavulánico incrementándose de un 81 % en el 2008 a 100%.

➤ **Co-resistencia antimicrobiana en *A. baumannii* aisladas del HNGAI**

En teoría, la restricción de un agente o clase de antibióticos suprime o reduce la presión de selección que este agente ejerce sobre los microorganismos expuestos limitando el desarrollo de resistencias al mismo. Sin embargo, la resistencia de un microorganismo a un agente dado puede estar influenciado por el uso de otros agentes no relacionados con éste (Friedrich *et al.*, 1999). El uso de diversos antibióticos de la misma o diferente clase puede estar asociado con cambios en la susceptibilidad de un microorganismo dado a otros agentes como resultado del acoplamiento genético de determinantes de resistencia comunes a varias clases de antibióticos. Por lo que es necesario determinar la co-resistencia entre antibióticos,

antes de aplicar la estrategia de restricción en el uso de ciertos antibióticos o familias, que es ampliamente utilizada para el control de la resistencia antimicrobiana (Sandiumenge *et al.*, 2006). En este estudio se observó la relación que existe entre la resistencia a los β -lactámicos (meropenem, imipenem, ceftriaxona, ceftazidima, cefotaxima y Cefepime), inhibidor de β -lactamasa (ticarcilina/ac.clavulánico), fluoroquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacina) y sulfamidas (sulfametoxazol-trimetoprim). Datos similar se reporto en un estudio en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE que eran resistentes a 3 clases de antibióticos (sulfonamidas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas) y la co-resistencia a sulfametoxazol/trimetoprim fue común a todas las cepas, seguido de ciprofloxacina, gentamicina y amikacina (Morales *et al.*, 2005). Es importante destacar que se ha establecido la relación entre la presencia de los determinantes *qnr* causante de la resistencia a quinolonas y la producción de β -lactamasas de espectro extendido en Enterobacterias (Escobar *et al.*, 2010).

Se ha descrito, por ejemplo, la asociación entre el uso de cefalosporinas o agentes con potente actividad anaerobicida con el aumento en la colonización por *Enterococcus* resistentes a vancomicina (May *et al.*, 2000). De igual modo existe evidencia de cómo la restricción de cefalosporinas se asocia a aumentos en la susceptibilidad a aminoglucósidos en enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*. Así pues, a la hora de diseñar una estrategia de restricción de antibióticos como medida de control de la resistencia hay que monitorear, no solo el agente restringido, sino también el uso de otros agentes cuyos mecanismos de resistencia puedan solaparse (Sandiumenge *et al.*, 2006).

➤ **Antibiotipos de resistencia en *A. baumannii* aisladas del HNGAI**

A comparación del hospital Arzobispo Loayza, de Lima, que presentan baja resistencia para los carbapenems y los aminoglucósidos (Angles, 2009), en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, se sigue incrementando el número de aislamientos y casos de resistencia, registrándose hasta 12 antibiotipos de resistencia, predominando en la mayoría de los servicios de hospitalización el antibiotipo VI y XII con una frecuencia del 40 y 25% respectivamente a comparación de otros países, como España, donde se han reportado 5 antibiotipos (Hernández, 1998), en Chile, 11 (Silva *et al.*, 1999) y 13 antibiotipos de resistencia en Colombia (Prado *et al.*, 2014), sin embargo en este nosocomio hay cepas que presentaban resistencia a los 14 antibióticos de uso clínico.

Entre el 25 al 40% de los pacientes hospitalizados reciben antimicrobianos, incrementándose este porcentaje hasta un 80% en los pacientes ingresados en las áreas críticas (UCI, Unidades de Quemados, shock trauma) (Paz *et al.*, 2008), siendo el servicio de UCI la que presentó mayor diversidad de antibiotipos de resistencia, debido a que los pacientes tienen alta tasa de complicaciones infecciosas y son expuestos a antibióticos de amplio espectro por largos periodos de tiempo, aumentando así su estancia y por ende su resistencia antimicrobiana.

El uso de antibióticos de amplio espectro por un largo periodo de tiempo está en relación con la infección por *Acinetobacter baumannii*, estudios reportan que el 70-75% de pacientes que recibieron antibioticoterapia durante los 15, 30 días o 44 meses con carbapenémicos, cefalosporina de tercera generación (Salas *et al.*, 2002), aminoglucósidos (Katrakou *et al.*, 2006) o quinolonas, registran una fuerte asociación con la aparición de cepas multirresistentes de *A. baumannii*. Por tal razón es necesario implementar estrategias de prescripción que fomenten el equilibrio y la

heterogeneidad antibiótica, ya que tienen un efecto protector sobre la aparición y desarrollo de infección/colonización por microorganismos resistentes en lugares de alta presión antibiótica (Sandiumenge *et al.*, 2006).

Es así, que para hacer la elección de una determinada estrategia de control antibiótico, se requiere que se modifiquen los esquemas de antibioticoterapia empírica ya que estos nuevos tratamientos empíricos deben basarse en estudios sobre el conocimiento de la flora que coloniza e infectan los pacientes así mismo los patrones de resistencia y sensibilidad de cada área dentro de una misma institución hospitalaria. Dicha estrategia es aparentemente valiosa para el control de colonización e infección por gérmenes multiresistentes porque reduce aparentemente la presión selectiva.

➤ **Perfil plasmídico y resistencia antimicrobiana**

Hace más de 25 años se demostró que *Acinetobacter* spp puede adquirir resistencia a los antimicrobianos a través de plásmidos conjugativos (Peleg *et al.*, 2008). En la República Checa se reportaron 37 perfiles plasmídicos a partir de 77 aislamientos de *A. baumannii*, presentando tamaños de 2 a >100 kb (Nemec *et al.*, 1999). En el 2003, en Gran Bretaña, un plásmido de 66.1 kb asociado a la resistencia a las cefalosporinas (Suresh *et al.*, 2003). En la India, cinco perfiles plasmídicos con un tamaño de 1.5 a 40 kb, (Karishma *et al.*, 2007) y 4 perfiles con un tamaño de 4-50 kb (Patwardhan *et al.*, 2008). En Colombia se han reportado 19 perfiles plasmídicos con tamaños que van desde 1.3 Kb hasta 35 Kb y que contiene un gen que codifica para una carbapenemasa (Moreno, 2010). El 2012, en el Medio Oriente, se reportó la presencia de plásmidos con tamaños entre 3.5Kb a 10 Kb (Pahwa *et al.* 2012), y >194 kb que alberga genes de resistencia a diversos antibióticos (Shehata, 2012).

En nuestra investigación se han determinado 31 perfiles plasmídicos en 38 cepas, con tamaños entre 1,2–55,8 Kb aproximadamente que confieren un mismo antibiograma o varios, presentándose una mayor frecuencia en los servicios de UCI, seguido de Medicina Interna 2.

Para poder determinar la relación de la resistencia con la presencia de plásmidos, se procedió a un proceso de curado de plásmidos, para el cual se utilizó como agente curador EtBr. Algunos reportes han mostrado que éste microorganismo es sensible a este compuesto a concentraciones de 128, 216, 400 y 512 µg/ml (Stanisich, 1988; Pournaras, 2006; Pahwa *et al.*, 2012; Suresh *et al.*, 2003). Para la estandarización del porcentaje de EtBr a usar, se hizo una prueba de concentración mínima de inhibición con concentraciones desde 70 µg/ml hasta 700 µg/ml, obteniendo crecimiento solo hasta la concentración de 300µg/ml, luego, al realizar la prueba de sensibilidad a una cepa resistente a 14 antibióticos, se obtuvo una mayor pérdida de la resistencia a 300 µg/ml, por tal motivo se determinó que esa era la concentración adecuada. Fenotípicamente se observó que la cepas, a esa concentración, se curaban, pero, al realizarse la extracción de plásmidos, se evidenciaba en algunas cepas la pérdida total, pero en otras, aun se observaron bandas pero en menor número; por lo que, probablemente, el agente curador solo permitió la pérdida de plásmidos de menor peso molecular, evidenciando así la pérdida de la resistencia a algunos antibióticos, quedando la probabilidad de que la resistencia a los otros, se encuentre codificada en plásmidos de mayor peso, así fue que se procedió a realizar 3 pasajes con EtBr, sin embargo, no se observó ninguna variación, por ende se denomina al proceso como una **curación parcial**.

En algunos caso se observó la aparición de una nuevas banda tras la desaparición de una banda mayor, caso similar se reportó en cepas de *S. aureus*, curadas con 250 µg/ml de EtBr donde apareció una banda de 8,069 kb aproximadamente, lo que hace

inferir la observación de distintas conformaciones de superenrollamiento de la banda desaparecida (> 26,111 Kb), sin relacionarse con el cambio de fenotipo. Esta información solo podrá ser develada luego de la digestión de dichos ADN plasmídicos con enzimas de restricción (Asensio *et al.*, 2008).

En trabajos previos, se tiene evidencia de que la resistencia en *Acinetobacter* a los β -lactámicos, penicilinas, aminoglucósidos, tetraciclinas y sulfonamidas está mediada por plásmidos (Medina, 2011), así como en el estudio de Saranathana *et al.*, 2014 donde registró plásmidos de 500 pb, hasta mayores de 25 Kb, y luego de la curación, se convirtieron sensibles a aminoglucósidos y quinolonas y / o cefalosporinas. En el presente trabajo, luego del proceso de curación de las cepas que presentaban plásmidos, se evidenció en la mayoría de los casos la pérdida o disminución de resistencia a las mismas familias mencionadas anteriormente, pero además se observó que la resistencia a las quinolonas estaría relacionada con este mecanismo, siendo así el tercer reporte a nivel mundial, después de la India (Chaudhary *et al.*, 2013) y Francia (Touati *et al.*, 2008), donde se han registrado la presencia de genes *qnr* que está codificada en plásmidos, y le confiere resistencia a esta familia de antibióticos, en especial a ciprofloxacina y levofloxacina.

➤ Prevalencia

Acinetobacter baumannii ha pasado, en los últimos años, de ser considerado un microorganismo de poca relevancia clínica, a convertirse en un patógeno cada vez más frecuente dentro de las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (IAAS), constituyendo un grave problema de la salud pública a nivel mundial, por su frecuencia y elevada mortalidad en hospitales de países europeos como España, Italia e Inglaterra. También se han reportado brotes en hospitales de países asiáticos como Corea, Taiwán, Japón y China, de países del Pacífico Sur, y en países de

Latinoamérica como Chile. Argentina, Brasil y Colombia (Zúñiga *et al.*, 2011). La prevalencia a nivel latinoamericano es desconocida, en el Perú tampoco se conoce la prevalencia de la resistencia antimicrobiana ni los mecanismos que están involucrados.

En nuestra investigación, se reportaron 111 casos (7.42%) para el 2012, presentando un aumento lineal desde los últimos reportes del nosocomio que data del 2006-2011 (1-6.75%), observando una tendencia a seguir aumentando para los siguientes años. Al comparar con otros nosocomios de Lima, como el Hospital San Bartolomé, INEM, el Hospital Hipólito Unanue y Arzobispo Loayza, entre los años 2006-2008, que presentaban una prevalencia del 1-2% (Instituto Nacional de Salud, 2006-2008).

Al comparar con otros países, en un hospital de tercer nivel en México en 13 años de evaluación, se registró un aumento en el número de aislamientos, 105 casos registrados en el año 2000, a 606 para el año 2011 (Otero *et al.*, 2013). En Colombia se reportaron 105 aislamientos de *A. baumannii* en un año (Domínguez *et al.*, 2000). En los hospitales de España se presentó un 221 casos representando el 3.9% (Rodríguez *et al.*, 2004). En Italia, en 1 año, se reportaron 145 casos, representado una prevalencia del 15.1% (Barbi *et al.*, 2010). La proporción de *A. baumannii* en un hospital en China se incrementó de 7.0% en 2008 a 18,8% en 2011, convirtiéndose en el más patógeno y frecuente en los aislados de Gram negativas (Xu *et al.*, 2013). Los valores previamente resumidos tienen la misma tendencia de crecimiento observada en el Perú, en base a los estudios previos realizados.

➤ **Según el tipo de muestra y servicio de hospitalización**

La distribución de *A. baumannii* a través del tiempo, ha marcado diferencia en los reportes en Canadá/EEUU, Latinoamérica, Europa y Asia-Pacífico; presentando una

mayor frecuencia en muestras de secreciones respiratorias en Europa y Latinoamérica, con 42.1-11.6% respectivamente; a diferencia de Canadá/EEUU, que se aíslan principalmente en muestra de secreción de herida (2-2.4%) ((Gales *et al.*, 2012). Con respecto al servicio médico, los aislamientos fueron mayores para el servicio de Medicina Interna para ambas regiones, y en segundo lugar el servicio de UCI para Latinoamérica, así como Cirugía para Canadá/EEUU, en comparación con Europa, donde hubo un mayor aislamiento de pacientes hospitalizados en el servicio de UCI (68.4%), seguido de Medicina interna y Neumología (2.9%) (Gales *et al.*, 2012).

En los hospitales peruanos no se realizan monitoreos detallados de la resistencia y prevalencia según el tipo de muestra y servicio de hospitalización de esta especie, por lo que los datos son muy limitantes para la comparación a nivel nacional, encontrándose solo una prevalencia del 1-4%.

En el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen de la ciudad de Lima se realizaron entre los años 2004 al 2006, reportes de frecuencia y resistencia en el Servicio de Cuidados Intensivos, encontrándose que: La incidencia de las infecciones en la vías respiratorias por *A. baumannii*, aumentó en 50%; de 13,2% en el 2004 a 20,2% en el 2006, desplazando al grupo de las Enterobacteriaceas. Según la encuesta nacional de infección hospitalaria en UCI de los Estados Unidos, indica que las cepas de *Acinetobacter*, causaron el 6,9% de las neumonías hospitalarias en el 2003, comparadas con el 1,4% en 1975 (Talbot *et al.*, 2006). La frecuencia de esta especie en muestras respiratorias ha crecido exponencialmente desde el 2008 al 2012 en un 39%. Estas muestras provienen principalmente del área de UCI, debido que los pacientes se encuentran con ventilación mecánica e intubación traqueal, lo que hacen que haya pérdida de la capacidad de filtración y del efecto protector inmune de los agentes patógenos, dando lugar a la infección pulmonar exógena y endógena.

En segundo lugar se observó un aumento de los aislamientos en las muestras de Hemocultivo en un 9.28% desde 2008 al 2012, el mismo lugar ocupó en el 2006 en la área de UCI, desplazando al *S. epidermidis* (6,9%) e incluso a la *P. aeruginosa* (5,3%). En tercer lugar tenemos a las muestras de urocultivos, que aumentó en un 10%. Luego, a los líquidos biológicos con un 9.38%, heridas que se mantuvo casi en la misma proporción que los otros años (6.25%), catéter vascular periférico en un 6.25% y otras muestras en 1-2%. Con respecto al área de hospitalización nuestros resultados reportan una mayor frecuencia de aislamientos en el servicio de UCI (33.6%), seguido de Medicina Interna 1 y Cirugía General 5, 9.1-8.2% respectivamente, principalmente de muestras de secreciones respiratorias y hemocultivos.

Del mismo modo, en Chile, la mayor frecuencia se aisló de pacientes en UCI (31.8%), seguido de cirugía y traumatología (14.1%), siendo la fuente de origen la secreción de herida (42.5%), secreciones respiratorias (41.5%) y en menor porcentaje hemocultivos, líquido peritoneal y catéter (1.8-2.6%) (Domínguez *et al.*, 2000). En México, el área de UCI y Medicina estuvieron presentes en un 20.8-9.4%, respectivamente, seguido del servicio de neurocirugía (5.8%), cirugía (1.6%) y pediatría (1%), recuperándose de secreciones respiratorias (30.5%) principalmente, catéter vascular (13.8%), sangre (8.5%), orina (6.9%), líquido pleural y LCR (1.1-1.8%) (Otero *et al.*, 2012). Igual caso se reportó en Colombia, se aisló principalmente de aspirado traqueal (42.86%), lavado bronquioalveolar (21.43%) seguido de hemocultivo y líquido peritoneal (14.29%) (Galvis *et al.*, 2011). A comparación de China donde se aisló con frecuencia del servicio de Geriatria (23%), Emergencia (17.4%), UCI (16.7%). neurocirugía y neumología en un 9.6 y 8.3% respectivamente, principalmente de muestras respiratorias (79.8%) y en menor proporción de muestras de sangre (4%), orina (1.5%), catéter (3.4%) y pus (2.6%) (Xu *et al.*, 2013).

Como se observa, los aislamientos de *A. baumannii* son más frecuente de las secreciones respiratorias, hemocultivo y urocultivos y en pacientes internados en el servicio de UCI, debido a que estos presentan una mayor predisposición a ser colonizados o infectados por este patógeno oportunista, debido a su estado de inmunosupresión y los diferentes procedimientos invasivos médicos a los que están sometidos, siendo este último el principal factor de riesgo de infección, en la India se le atribuye: el 30,4% de neumonía está asociada a ventilador mecánico (más o menos diez días después de iniciarlo), el 35,2% de infecciones del torrente sanguíneo asociado a catéteres, un 12,5% a infecciones del sitio quirúrgico y un 2,94% de las infecciones del tracto urinario asociado a sonda (Jaggi *et al.*, 2012).

➤ **Según factores de comorbilidad, sexo y edad**

La investigación permitió establecer la asociación que existe entre los factores de comorbilidad, edad, sexo, de pacientes infectados y/o colonizados con *Acinetobacter baumannii*.

Así, la edad media de nuestra serie fue 62.314 ± 19.745 y el grupo etáreo más frecuente fue el de los adultos mayores, seguidos por el de adultos; en el sexo femenino se presentaron mayormente en el grupo etáreo de 63-72 años (25%), así mismo en el sexo masculino se presentaron en el grupo etáreo de 72-81 años (23.64%), aunque se presentó dos casos en niños menores de 9 años. Se encontró que no existe diferencia significativa entre ambos sexos. En cuanto a los factores de comorbilidad de los pacientes asociados a la infección, nuestra investigación permite afirmar que los estados de inmunosupresión, ocasionada por haber sido sometido a cirugía o presentar enfermedades bases como cáncer, insuficiencia hepática, Insuficiencia renal crónica y EPOC; estuvieron presente en gran número de aquellos pacientes de quienes se aislaron *A. baumannii*.

Nuestros datos son similares con algunos reportes de otros países con respecto a los factores de comorbilidad, edad, mas no en sexo, por ejemplo, en Colombia se reporta en pacientes con edad media de 41 ± 17.34 y > 65 años y un mínimo de 16 con un máximo de 90 años, con mayor frecuencia en hombres (64.24%) en comparación de su colega Lemos *et al.*, 2013, que menciona casos en pacientes menores de 65 años (75%) y con una mayor prevalencia en hombres(64%) pero se asocia principalmente a casos de diabetes (67%), EPOC (26.2%), hipertensión (21%), falla renal (9.7%), en menor proporción cáncer, falla hepática y enfermedad genética del corazón (2%) (Galvis *et al.*, 2009; Lemos *et al.*, 2011; Lemos *et al.*, 2013).

A diferencia de Corea, que reportan infección en personas con edad media 58.4 ± 20.9 con una frecuencia del 53.7% en varones pero se ha asociado fuertemente en pacientes con cáncer (52.8%), diabetes (31%), cirrosis (14%) y aquellos sometidos a trasplante de riñón (11.3%) (Kim *et al.*, 2012). Así, en México, se presenta una mayor frecuencia de casos en mujeres (66.6%) con edades mayores de 65 años (53%), seguido de 45-65 (25.6%) y de 25-44 (20%) años con alguna enfermedad pulmonar preexistente y enfermedades de base debilitantes (Ramírez *et al.*, 2013).

Existe nuevos reportes en niños con edad media de 6.08 ± 3.7 años, con mayor frecuencia en varones (79.13%), hospitalizados en los servicios de UCI pediátricos, asociado a factores como enfermedad congénita del corazón (31.3%) (Fang *et al.*, 2012), nuestros datos se asemejan más a los presentados por el SENTRY, donde reportaron una mayor prevalencia en niños <10 años (6.9-13.3%), especialmente en <1 años (3.3-5.6%), sin tener en cuenta el sexo y en menor proporción en adultos >81 años, con una frecuencia del 81% en hombres (Gales *et al.*, 2001).

En menor proporción en China se presentó dicha infección en pacientes con el síndrome Guillain Barré (1.74%) y en aquellos que padecían atrofia muscular (0.87%) (Fang *et al.*, 2012), datos también registrados en este trabajo.

Es así que la inmunosupresión del pacientes es un factor muy asociado a las infecciones intrahospitalarias (Suresh *et al.*, 2013), más aun en aquellos pacientes que han sido sometidos a un proceso quirúrgico, quimioterapias o pacientes con VIH o/y tuberculosis. Como lo menciona Enríquez y Benítez, en su trabajo del 2014, que asocia a dicha infección con algún tipo de inmunodeficiencia (42.8%) y en aquellos pacientes sometidos a cirugía (38.1%).

➤ **Según la mortalidad**

En varias partes del mundo, la incidencia de infecciones graves por especies de *Acinetobacter* ha ido en aumento. Las principales manifestaciones clínicas asociadas a *Acinetobacter* spp., corresponden a neumonías asociadas a ventilación mecánica y a infecciones del torrente sanguíneo, en ambos casos alcanzan una mortalidad cerca del 75%.

La mortalidad cruda reportada en la bibliografía entre los años 2004 y 2006 era del 34 a 43% (EL Shafie *et al.*, 2004; Falagas *et al.*, 2006). Dado que la infección por *A. baumannii* multirresistente normalmente ocurre en pacientes gravemente enfermos e ingresados en UCI, la mortalidad asociada cruda era alta (26%-68%) (Maragakis *et al.*, 2008) a comparación de la infección por una cepa sensible (9%) y una cepa multirresistente (42%) en un periodo de 30 días y para pacientes que se encuentran en otros servicios de hospitalización la mortalidad atribuible al microorganismo varía entre el 7,8% al 23% (Sunenshine *et al.*, 2007). Enríquez y Benítez, 2014 encontramos una tasa de letalidad del 64% (27/42), lo cual es similar a lo reportado últimamente en

la literatura, que abarca en promedio de un 50 a 70%. El porcentaje de mortalidad en este estudio es similar a los reportes mundiales, registrándose así un 56.41, el 44% se encontraba hospitalizado en el servicio de UCI y estuvo asociado a pacientes con problemas respiratorios, infecciones del torrente sanguíneo, infecciones del tracto urinario y que se encontraban con algún proceso invasivo es así que la mortalidad asociada se vio favorecida por la infección por *Acinetobacter baumannii* pero como una variable independiente.

Es, sin embargo, muy difícil determinar en estos pacientes la mortalidad atribuible a la infección independientemente de la gravedad de sus enfermedades subyacentes. No obstante, muchos de los estudios están limitados por el pequeño tamaño de la muestra, las diferencias metodológicas, y la dificultad para controlar de forma adecuada la gravedad de la enfermedad de base del paciente. Pero es posible que la infección por esta especie sea un marcador de aumento de la mortalidad en pacientes con enfermedad subyacente grave más que un predictor independiente de mortalidad (Maragakis *et al.*, 2008; Falagas *et al.*, 2006) esto se reflejo en un estudio España se concluyó que los factores pronósticos asociados de forma independiente en el análisis multivariante a mayor mortalidad son la enfermedad de base como la presencia de cardiopatía, EPOC y tratamiento antibiótico inadecuado, incluyendo la monoterapia., como se reporto en Corea donde se demostró que la administración de un tratamiento empírico inadecuado en pacientes con bacteriemia por *Acinetobacter* fue un factor de mortalidad a los 30 días (Maragakis *et al.*, 2008; Kwon *et al.*, 2007).

➤ **Según estacionalidad**

Esta bacteria se aisló en condiciones ambientales características de temperaturas altas y baja humedad; temperaturas bajas y alta humedad. Siendo su patrón estacional, al menos dos veces mayor al final de verano respecto al invierno. Se cree

que los cambios de temperatura y humedad ambientales son las razones posibles de este hallazgo, además de su mejor crecimiento en el agua y la mayor facilidad para su transmisión (Salazar y Nieves, 2005).

Coincidiendo con los reportes con regiones tropicales donde se han reportado, con alguna frecuencia asociado a infecciones respiratorias adquiridas en la comunidad, en los meses húmedos y cálidos (Diomedi, 2005). A diferencia de México que registra un mayor frecuencia de aislamientos de *A. baumannii*, durante los meses secos y calurosos, de abril a junio y durante la temporada de lluvias, entre julio y septiembre, aunque esta tendencia no fue estadísticamente significativa (Otero *et al.*, 2013).

VII. CONCLUSIONES

1. Las cepas de *A. baumannii* aisladas de los pacientes internados en el HNGAI, presentan una alta resistencia, entre un 90 a 100% a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, inhibidores de β -lactamasas, carbapenemes, sulfamidas y fluoroquinolonas, exceptuando a la tetraciclina, tobramicina y gentamicina, las que aun presentan una sensibilidad del 38-48%, registrándose así 12 antibiotipos de resistencia siendo el más predominante el antibiotipo VI y XII con resistencia a 11 y 14 antibióticos y presente en la mayoría de las áreas de hospitalización, principalmente en el área de UCI.
2. Es un hecho alarmante en el HNGAI, el vertiginoso incremento de la resistencia a los carbapenemes en el lapso de siete años: 0% en el 2004 a un 100% en el 2012, siendo un problema de salud grave con impacto clínico y económico en el hospital.
3. *A. baumannii* presenta co-resistencia a β -lactámicos (meropenem, imipenem, ceftriaxona, ceftazidima, cefotaxima y cefepime), inhibidor de β -lactamasa (ticarcilina/ac.clavulánico), fluoroquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacina) y sulfamidas (sulfametoxazol-trimetoprim), siendo esto un importante dato para diseñar una buena estrategia de resticción antibiótica para el control de la resistencia.
4. El 95% de las cepas de *A. baumannii* aisladas son portadoras de plásmidos, las cuales presentan 31 perfiles plasmídicos electroforéticos con bandas de tamaño entre 1,2-55,8 kb, asociados principalmente al antibiotipo VI; siendo UCI el servicio con la mayor diversidad de perfiles plasmídicos, seguido de Medicina interna 2, Medicina interna1 y Cirugía general 5.

5. La prevalencia de cepas de *Acinetobacter baumannii* durante el 2012 en el HNGAI, fue del 7.42%, presentando un aumento lineal desde los últimos reportes del nosocomio que data del 2006-2011 (1-6.75%), aislándose con mayor frecuencia en UCI, seguido de Medicina Interna 1 y Cirugía General 5, principalmente de muestras de secreciones respiratorias, hemocultivo y orinas; esto debido a que en estas áreas los pacientes presentan una mayor predisposición a ser infectado por microorganismos oportunistas.
6. Los aislamientos se presentaron con mayor frecuencia entre los meses de febrero, marzo, mayo y julio, donde las condiciones de humedad y temperatura son mas extremas para la bacteria.
7. La infección por *A. baumannii* se presento en pacientes con edades entre 63 y 81 años, con estado de inmunosupresión; esto es ocasionado generalmente por haber sido sometidos a cirugía o tener enfermedades base como cáncer, insuficiencia hepática, insuficiencia renal crónica y EPOC.
8. La mortalidad de los pacientes infectados con *A. baumannii* fue del 56.41%, de los cuales el 44% proceden del servicio de UCI con problemas respiratorios, infecciones del torrente sanguíneo, infecciones del tracto urinario debido a los diferentes procesos invasivos a los que fueron sometidos.
9. En la mayoría de las cepas, la resistencia a todos los antibióticos estudiados, está codificada en plásmidos.

VIII. RECOMENDACIONES

- Las deficiencias en la aplicación de las pautas de prevención y control de infecciones, como el lavado e higiene insuficiente de las manos o el deficiente aseo y desinfección hospitalaria, ocasionan que *A. baumannii* persista en el ambiente por largos períodos de tiempo aumentando el riesgo de transmisión cruzada entre el personal sanitario, la familia y el paciente. Se debe concientizar al personal de salud para que aplique normas higiénicas antes y después de examinar a los pacientes, así como el lavado y descontaminación con formaldehído de las habitaciones y del equipamiento contenido en ellas después del cambio del paciente.
- Fomentar el uso y selección adecuada de los agentes antimicrobianos, debido a que es un recurso eficaz para combatir las infecciones intrahospitalarias.
- Se deben de realizar reportes mensuales de susceptibilidad antimicrobiana a nivel del hospital por cada área de hospitalización en forma permanente, con el objetivo de monitorear las tendencias de resistencia e implementar estrategias de prescripción que fomenten el equilibrio y la heterogeneidad antibiótica, ya que tiene un efecto protector frente la aparición y desarrollo de infección/colonización por microorganismos en lugares de alta presión antibiótica.
- Con respecto al proceso de curación se recomienda evaluar con mayores tiempos de incubación con EtBr, a fin de generar la curación total y no parcial obtenida en este trabajo.
- Es necesario evaluar la presencia de signos y síntomas ya que cumplen un papel especial para orientar al clínico en la definición del proceso infeccioso,

muchas ocasiones los aislamientos de *A. baumannii* obtenidos a partir de muestras respiratorias o de orina, pueden corresponder a una colonización más que a una enfermedad infecciosa.

- Una vez que *A. baumannii* es identificado como el microorganismo responsable de un brote epidémico deben precisarse su origen y la cadena epidemiológica. Del conocimiento adecuado de estos datos dependerá la eficacia de las medidas correctoras que se adopten.
- Se recomienda discutir sobre la carga de trabajo de las enfermeras o personal técnico en áreas críticas como UCI en HNGAI, ya que la razón enfermera/paciente es de una enfermera por 2 pacientes, este hecho favorecería la disminución de la propagación de esta y otras especies patógenas oportunistas.
- Es necesario que se realice una previa descontaminación de los tubos endotraqueales antes de la toma de muestra de secreción, para evitar, aislar microorganismo, colonizadores y así prescribir un tratamiento adecuado.
- Desarrollar estudios posteriores, realizando el perfil de restricción plasmídico a las cepas, para poder diferenciar a las moléculas plasmídicas.
- Identificar mediante estudios posteriores, los genes codificantes de resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos y quinolonas, y en esta última familia, determinar la presencia del gen *qnr* en plásmidos.

IX. REFRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO C., VILLALOBÓN M., LOZANO K. Factores asociados a infección por *Acinetobacter baumannii* en una unidad de cuidados intensivos en Bogotá d.c. Universidad del Rosario, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud - Facultad de Medicina Especialización en Epidemiología. trabajo de investigación original para OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTAS EN EPIDEMIOLOGÍA, Bogotá, 2009-2011.
- ALVAREZCANO J., VÁSQUEZ R., LÓPEZ J., LAM C., MUCHA R., BARRIENTOS M. Multi-resistencia en bacterias aisladas en secreciones respiratorias en pacientes hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Dos de Mayo En: XII Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales “Dra. Olga Palacios Agüero”. Perú, Lima, 8-11 septiembre 2011. R39.
- Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. European Centre for Disease Prevention and Control, 2009.
- ANGLE E. Informe 02: informe de resistencia antimicrobiana Hospital Nacional Arzobispo Loayza setiembre 2008 a junio 2009. Lima- Perú.
- ASENSIO A., CANTON R., VAQUE J., CALBO F., HERRUZO R., ARRIBAS J. Prevalencia de infecciones por *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenems en España (1999-2005). España. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 2008, vol. 26, nº 4, p. 199-204.

- BARBI M., BELLANTI A., COREA F., SCARPONI F., BRUSTENGHI P., PROIETTI P., BALDONI M., TONI A., CERULLI G., FUMAGALLI A., ZAMPOLINI M. Prevalencia y factores asociados a las infecciones intrahospitalarias causadas por el *Acinetobacter baumannii* durante la neurorehabilitación intensiva. Italia. Anuario Fundación Dr. J.R. Villavicencio. 2010, nº 18. p. 98-102.
- BAUER A., KIRBY W., SHERRIS J., TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. American Journal of Clinical Pathology. 1966, vol. 45, nº 4, p. 493-496.
- BAYUGA S., ZEANA C., SAHNI J., DELLA-LATTA P., EL-SADR W., LARSON E. Prevalence and antimicrobial patterns of *Acinetobacter baumannii* on hands and nares of hospital personnel and patients: the iceberg phenomenon again. USA. Heart Lung. 2002, vol. 31, nº 5, p. 382-390.
- BELLO H., GONZALEZ G., DOMINGUEZ M., ZEMELMAN R., GARCIA A., MELLA S. Activity of selected b-lactams, ciprofloxacin, and amikacin against different *Acinetobacter baumannii* biotypes from Chilean hospitals. Chile. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 1997, vol. 28, nº 4, p. 183-6.
- BERGOGNE E., TOWNER K. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical, and epidemiological features. Paris, Francia. Clinical Microbiology Reviews. 1996, vol. 9, nº 2, p. 148-165.

- BERLAU J., AUUCKEN H., MALNICK H., PITT T. Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. London. European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases. 1999, vol. 18, n° 3, p. 179-83.
- BERTRAND X., DOWZICKY M. Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected from intensive care units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa between 2004 and 2009 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. Francia. Clinical Therapeutics. 2012, vol. 34, n° 1, p. 124-37.
- BOUVET P., GRIMONT P. Taxonomy of the Genus *Acinetobacter* with the Recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov. and *Acinetobacter junii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwofii*. Paris, Francia. International Journal of Systematic Bacteriology. 1986, vol. 36, n° 2, p. 228–240.
- BOUVET P., GRIMONT, P. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. Paris. Annales Institut Pasteur Microbiology. 1987, vol. 138, n° 5, p. 569–578.
- BOUVET P., JEANJEAN S. Delineation of new proteolytic genospecies in the genus *Acinetobacter*. Francia. Research in Microbiology, 1989, vol. 140, n° 4-5, p. 291-299.

- BRENNER D., KRIEG N., STALEY J. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Proteobacteria*. 2nd ed. New York. Press 2004. 1203 p. ISBN 978-0-387-28022-6.
- BRUGUERAS C., GARCIA M., SALUP R. Actualidad de las quinolonas. Habana. Revista Cubana de Farmacia. 2005, vol.39, nº1, p. 1-1.
- CASELLAS J. No todos los *Acinetobacter* son iguales en cuanto a patología y tratamiento. Es necesario esmerarse en identificarlos. La gaceta de infectología y microbiología clínica latinoamericana, 2012. vol. 2, nº 2, p. 1-3.
- CEFAL C., RICHARDS F., GOULD K., MCPEAKE P. An outbreak of *Acinetobacter* respiratory tract infection resulting from incomplete disinfection of ventilatory equipment. Reino Unido. Journal of Hospital Infection. 1990, vol. 15, nº 2, p. 177–182.
- CHAUDHARY M., KUMAR S., PAYASI A. Characterization of quinolone resistant genes and control of qnrB transfer by Potentox in Clinical isolates. India. Journal of Pharmacy Research. 2013, vol. 7, nº 1, p. 62-69.
- CHÁVEZ M., SALAZAR M., CABRERA C., GÓMEZ R., PALLARES C. Bacterias resistentes a los antibióticos en infecciones nosocomiales de un hospital en Colombia. Colombia. Enfermedades infecciosas y microbiología. 2012, vol. 33, nº 1, p. 19-25.

- Clinical and Laboratory Standard Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement. CLSI document M100 S22. PA, USA: Wayne; 2012.
- DE LA FUENTE M., DAUROS P., BELLO H., DOMINGUEZ M., MELLA S., SEPULVEDA M., ZEMELMAN R., GONZALEZ G. Mutaciones en gene *gyrA* y *gyrB* en cepas de bacilos Gram negativos aislados en hospitales chilenos y su relación con la resistencia a fluoroquinolonas. Chile. Revista Médica de Chile. 2007, vol. 135, nº 9, p. 1103-10.
- DIOMEDI P. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. Chile. Revista chilena de Infectología. 2005, vol. 22, nº.4, p. 298-320.
- DIJKSHOORN L., NEMEC A., SEIFERT H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Nature Reviews Microbiology, 2007, vol. 5, nº 12, p. 939–951.
- DHAKEPHALKAR P., CHOPADE B. High levels of multiple metal resistances and its correlation to antibiotic resistance in environmental isolates of *Acinetobacter*. India. Biometals. 1994, vol. 7, nº 1, p. 67-74.
- DOMINGUEZ M., SEPULVEDA A., BELLO H., GONZALEZ G., MELLA S., R ZEMELMAN Z. Aislamiento de *Acinetobacter* spp. desde muestras clínicas en el Hospital Clínico Regional "Guillermo Grant Benavente", Concepción. Chile. Revista chilena de Infectología. 2000, vol. 17, nº 4, p. 321-325.

- EL SHAFIE S., ALISHAQ M., LENI M. Investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in trauma intensive care unit. India. Journal of Hospital Infection. 2004, vol. 56, nº 2, p. 101-5.
- ENRÍQUEZ A., BENÍTEZ C. Neumonía asociada a ventilación mecánica por *Acinetobacter baumannii* MDR en una unidad de terapia intensiva de tercer nivel. México. Acta Médica Grupo Ángeles. 2014, vol. 12, nº 2, p. 57-64.
- ESCOBAR A., PORTO A., JORIS R., SANSEVICH M., GUTKIND G., DI CONZA J., TRUPPIA L. Detección de genes qnr en aislamientos de enterobacterias con resistencia simultánea a fluorquinolonas y oximinocefalosporinas. Argentina. Revista FABICIB. 2010, vol. 14, p. 39-45.
- Estadística del servicio de Microbiología del HNGAI. Lima-Perú, 2008.
- Estadística del Servicio de Microbiología-HNGAI. Lima-Perú, 2011.
- FALAGAS M., BLIZIOTIS L., SIEMPOS L. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. USA. BioMed Central Ltd, 2006, vol. 10, nº 2, p. 1-8.
- FALAGAS M., RAFAILIDIS P. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: no longer a controversial issue. Grecia. Critical Care Medicine and Infectious Diseases. 2007. vol. 11, p. 134.

- FALAGAS M., KARAGEORGOPOULOS D. Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among Gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology. Grecia. Clinical Infectious Diseases. 2008, vol. 46, n° 7, p. 1121–2.
- FANG X., SUN J., BAO L., LI W. Risk factors and antibiotic resistance of pneumonia caused by multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in pediatric intensive care unit. China. World Journal of Emergency Medicine. 2012, vol. 3, n° 3 p. 202–207.
- FERNÁNDEZ F., LÓPEZ L., RODRÍGUEZ J. Contribución del laboratorio de microbiología en la vigilancia y el control de brotes nosocomiales producidos por bacilos gram negativos no fermentadores. España. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011, vol. 29, n° 3, p. 40-46.
- FERNÁNDEZ F., TOMÁS M., CABALLERO F. In vitro activity of 18 antimicrobial agents against clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: multicenter national study GEIH-REIPI-Ab 2010. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2013, vol. 31, p. 4-9
- FLORES W., ILLESCA R., ROFRIGUEZ L., HIDAGO V., PAZ E., MENDIVIL S. Reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana. Lima, Perú. Essalud. 2011.
- FLUIT A., FLORIJN A., VERHOEF J., MILATOVIC D. Presence of tetracycline resistance determinants and susceptibility to tigecycline and minocycline.

Europa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005, vol. 49, nº 4, p. 1636-1638.

- FRIEDRICH L, WHITE R., BOSSO J. Impact of use of multiple antimicrobials on changes in susceptibility of Gram negative aerobes. USA. Clinical Infectious Diseases. 1999 vol. 28, nº 5, p. 1017-24.
- GALES A., JONES R., FORWARD K., LINARES J., SADER H., VERHOEF J. Emerging Importance of Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Species and *Stenotrophomonas maltophilia* as Pathogens in Seriously Ill Patients: Geographic Patterns, Epidemiological Features, and Trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–1999). USA. Clinical Infectious Diseases. 2001. vol. 32, nº 2, p. 104-13.
- GALES A., JONES R., SADER H. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–09). Brasil. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2011, vol. 66, nº 9, p. 2070–4.
- GALES A., CASTANHEIRA M., JONES R., SADER H. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2012. vol. 73, nº4, p. 354-60.
- GARNACHO J., ORTIZ C., FERNANDEZ E., ALDABO T., CAYUELA A. Y MARQUEZ J. GARCIA A., JIMÉNEZ J. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. España. Intensive Care Med. 2005, vol. 31, nº 5, p. 649-55.

- GERNER P. Ribotyping of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. Dinamarca. Journal of Clinical Microbiology. 1992, vol. 30, nº 10, p. 2680–2685.
- GIAMARELLOU H., ANTONIADOU A., KANELAKOPOULOU K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? Grecia. International Journal of Antimicrobial Agents. 2008, vol. 32, nº 2, p. 106-19.
- GOBERNANDO M. *Acinetobacter baumannii*. Un oportunista fuera de lugar? Valencia, España. Medicina Clínica. 2012, vol. 138, nº 5, p. 204-206.
- HERNÁNDEZ A., GARCÍA E., GOMEZ, J. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* multirresistente y resistente a carbapenem: factores asociados a la mortalidad. España. Medicina Clínica. 2012, vol. 138 nº 15, p. 605-655.
- HIGGINS P., LEHMANN M., SEIFERT H. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. Alemania. International journal Antimicrobial Agents. 2010, vol. 35, nº3, p. 305.
- IBRAHIM A., GERNER P., LIESACK W. Phylogenetic relationship of twenty-one DNA groups of the genus *Acinetobacter* as revealed by 16S ribosomal DNA sequence analysis. Dinamarca. International journal of systematic bacteriology. 1997, vol. 47, nº 3, p. 837-841.
- Informe De La Resistencia Antimicrobiana. En Hospitales En Perú–2006, Instituto Nacional De Salud.

- Informe De La Resistencia Antimicrobiana. En Hospitales En Perú–2007, Instituto Nacional De Salud.
- Informe De La Resistencia Antimicrobiana. En Hospitales En Perú–2008, Instituto Nacional De Salud.
- Informe De La Resistencia Antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario-2011.
- Informe de Vigilancia de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud en Chile-2011.
- JAGGI N., SISSODIA P., SHARMA L. *Acinetobacter baumannii* isolates in a tertiary care hospital: Antimicrobial resistance and clinical significance. Journal of Microbiology and Infectious Disease. India. 2012, vol. 2, nº 2, p. 57-63.
- JAWAD A., HAWKEY M., HERITAGE J., SNELLING M. Description of Leeds *Acinetobacter* medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. USA. Journal of Clinical Microbiology. 1994, vol. 32, p. 2353–2358.
- KARISHMA P., SUPRIYA Y., BALU C. Plasmid distribution and antimicrobial susceptibility patterns of *Acinetobacter* genospecies from healthy skin of a tribal population in western India. The Indian. Journal of. Medical Research. 2007, vol. 125, nº 1, p. 79-88.

- KATRAGKOU A., KOTSIΟΥ M., ANTACHOPOULOS C., BENOS A, SOFIANOU D., TAMIOLAKI M., ROILIDES E. Acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a pediatric intensive care unit: A case-control study. Grecia. Intensive Care Medicine. 2006, vol. 32, nº 9, p. 1384-91.
- KEMPF M., ROLAIN J. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. Francia. International journal Antimicrobial Agents, 2012, vol. 39, nº 2, p. 105–114.
- KERR K., BEGGS C., DEAN S., THORNTON J., DONNELLY J., TODD NJ. Air ionisation and colonisation/infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter* species in an intensive care unit. Inglaterra. Intensive care medicine. 2006, vol. 32, nº 2, p. 315-7.
- KIM Y., KIM S. , HONG K., PARK J., KANG M. Risk Factors for Mortality in Patients with Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Bacteremia: Impact of Appropriate Antimicrobial Therapy. Corea. Journal of Korean Medical Science. 2012, vol. 27, nº 5, p. 471-475.
- KWON K., OH W., SONG J., CHANG H., JUNG S., KIM S., RYU S., HEO S., JUNG D., YOUNG J., SHIN S., KO K., PECK K., LEE N. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia.USA. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007, vol. 59, nº 3, p. 525.
- LEE N., LEE H., KO N., CHANG C., SHIH H., WU C. Clinical and economic impact of multidrug resistance in nosocomial *Acinetobacter baumannii*

bacteremia. Taiwan. Infection control and hospital epidemiology: the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America. 2007, vol. 28, nº6, p. 713-9.

- LEMOS E., DE LA HOZ F., ALVIS N., QUEVEDO E., CAÑÓN O. Y LEÓN Y. Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. Rev. Panamericana de Salud Pública. 2011, vol. 30, nº4, p. 287–94.
- LEMOS E., DE LA HOZ F., ALVIS N., QUEVEDO E., EINARSON T, CAROLINA CASTAÑEDA C., KAWAI K. Costos en pacientes con infección por *Acinetobacter baumannii* en Colombia. Bogotá. Infection. 2013, vol.17, n.4, p. 185–192.
- LÓPEZ HERNÁNDEZ, SUSANA. “Estudio de los mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en aislamientos clínicos de *Acinetobacter* spp.” Asesores: Manuel López Brea. Tesis (Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología II, Barcelona, 1998.
- MARAGAKIS LL., MILLER R. Y PERL T. Incidence and prevalence of multidrug-resistant *Acinetobacter* using targeted active surveillance cultures. Jama. 2008. vol. 299, nº 21, p. 2513-4.
- MARTINS A.F., KUCHENBECKER R.S., PILGER K.O., PAGANO M. y BARTH A.L. High endemic levels of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* among hospitals in southern Brazil. Brasil. American journal of infection control. 2011. Vol. 40, nº 2, p. 108-12.

- MAY A., MELTON S., MCGWIN G, MOSER S., RUE L. Reduction of vancomycin-resistant enterococcal infections by limitation of broad-spectrum cephalosporin use in trauma and burn intensive care unit. USA. Shock. 2000, vol. 14, nº 3, p. 259-64.
- MEDINA CASTRO, OLGA. “Determinantes genéticos asociados con la resistencia a cefalosporinas, aminoglicósidos y quinolonas en aislamientos hospitalarios de *Acinetobacter baumannii*”. Asesores: MSc, QF. José Ramón Mantilla Anaya. Tesis (Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá, Colombia, 2011.
- MEDEIROS M., LINCOPAN N. Oxacillinase (OXA)-producing *Acinetobacter baumannii* in Brazil: clinical and environmental impact and therapeutic options. Brasil. Brazilian Journal of Pathology and Laboratory Medicine. 2013, vol. 49, nº 6, p. 391-405.
- MINGEOT M., GLUPCZYNSKI Y., TULKENS P. Aminoglycosides: Activity and Resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1999 vol. 43, nº 4, p. 727–37.
- MONTALVO R., ALVAREZCANO J., HUAROTO L., LÓPEZ J., LAM C., MUCHA M., BARRIENTOS M., DE HUMBERTO L., BERNABÉ A. Factores asociados a mortalidad por neumonía nosocomial en un hospital público de Perú. Lima- Perú. Revista Peruana de Epidemiología. 2013, vol. 17, nº 2, p. 1-6.

- MONTEFOUR K, FRIEDEN J, HURST S, HELMICH C, HEADLEY D, MARTIN M. An emerging multidrug resistant pathogen in critical care. USA. Critical. Care Nurse. 2008, vol. 28, nº1, p.15-25.
- MORALES J., REYES K., MONTEGHIRFO M., ROQUE M., IREY J. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú. Anales de la Facultad de Medicina. 2005, vol. 66, nº 1, p. 24-32.
- MOREAU N., HUOT S., JOY-GUILLOU M. Y BERGOGNE-BÉRÉZIN E. Characterisation of DNA gyrase and measurement of drug accumulation in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* resistant to fluorquinolones. Francia. Antimicrob Chemother. 1996, vol. 38, nº 6, p. 1079-1083.
- MORENO MEJÍA, VIVIAN MARCELA. "Caracterización de plásmidos portadores del gen bla_{oxa}-23 en aislamientos hospitalarios del complejo *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus ". Asesor: José Ramón Mantilla Anaya. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2010.
- MUÑOZ L., WEINSTEIN R. *Acinetobacter* Infection. USA. New England journal of medicine. 2008, vol. 358, nº 12, p. 71-81.
- NEMEC A., JANDA L., MELTER O., DIJKSHOORN, L. Genotypic and phenotypic similarity of multiresistant *Acinetobacter baumannii* isolates in the Czech Republic. Journal of Medical Microbiology. 1999, vol. 48, nº 3, p. 287–296.

- Organización Mundial de la Salud (O.M.S) .Farmacorresistencia: Importancia de la resistencia a los antimicrobianos para la salud pública [documento en línea] 2012. <http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/> [consulta: 20 agosto 2012].
- Organización Panamericana de la Salud (O.P.S) Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos- 2003” Washington, D.C.: OPS, 2005.
- Organización Panamericana de la Salud (O.P.S) Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos- 2008” Washington, D.C.: OPS, 2010.
- Organización Panamericana de la Salud (O.P.S) Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos- 2009” Washington, D.C.: OPS, 2011.
- Organización Panamericana de Salud (O.P.S). Informe anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos-2010. Washington, D.C.: OPS, 2012.
- OTERO R., ALCÁNTAR M., ROCHA M., ALPUCHE M., SANTOS J., GAYOSSO C., ARAIZA J., FLORES M., ESPARZA S., GONZÁLEZ E., PÉREZ H., RODRÍGUEZ E. *Acinetobacter baumannii* Infections in a Tertiary Care Hospital in México over the Past 13 Years. México. Chemotherapy 2013, vol. 59, p. 57–65.

- PAHWA S., KAUR J., CAMEOTRA S., NANDANWAR H. Curing of multiple plasmids by EtBr in *Acinetobacter baumannii*: a clinical isolate. India. Journal of Advances in Developmental Research (Life Sciences), 2012, vol. 3, nº 1, p. 82-84.
- PATWARDHAN R., DHAKEPHALKAR P., NIPHADKAR K., CHOPADE B. A study on nosocomial pathogens in UCI with special reference to multiresistant *Acinetobacter baumannii* harbouring multiple plasmids. India. Journal of International Medical Research 128. 2008, vol. 128, nº 2, p. 178-187.
- PAZ E., PONCE DE LEÓN D., RAMÍREZ R. Resistencia bacteriana en cuidados intensivos y tendencia actual: Departamento de Cuidados Críticos, Servicio de Cuidados Intensivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Essalud, Lima, Perú, 2004-2006. Perú. Acta Medica Peruana. 2008, vol. 25, nº 3, p. 140-147.
- PELEG A., SEIFERT H., PATERSON D. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. USA. Clinical Microbiology Reviews. 2008, vol. 21, nº 3, p. 538-82.
- POURNARAS S. , MARKOGIANNAKIS A., IKONOMIDIS A., KONDYLI L., BETHIMOUTI K. , MANIATIS¹ A., LEGAKIS N., TSAKRIS A. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. Grecia. Journal of Antimicrobial Chemotherapy .2006, vol. 57, nº 3, p. 557–561.

- PRADO A., ARIAS L., CHÁVEZ M., CABRERA E., GÓMEZ F. Caracterización fenotípica de aislamientos de *Acinetobacter baumannii* en una institución de salud de alta complejidad de Cali. Bogotá. Biomédica, 2014, vol.34, n° 1, p. 101-107.
- RAMÍREZ M., ARANZA J., VARELA M., GARCÍA A., VÉLEZ G., SALCEDO R., FAJARDO M., CRUZ M., MORENO F. Brote de infección nosocomial de vías respiratorias bajas por *Acinetobacter baumannii* en un servicio de Medicina Interna de un hospital general de la Ciudad de México. México. Medicina Interna de México, 2013, vol. 29, n.3, p. 250-256.
- RANIPHAL R., KLUGE R. *Acinetobacter calcoaceticus* variety *anitratus*: an increasng nosocomial problem. The American Journal of the Medical Sciences.1979, vol. 277, p. 57-65.
- REYNOLDS N. OXA-23 y IMP β -lactamases Responsable de la Resistencia de los Carbapanémicos en Aislamientos de *Acinetobacter* en Hospitales Peruanos.[documento en línea] 2012. <<http://www.med.navy.mil/sites/namru6/Documents/38%20Nathanael%20Reynolds.pdf>> [consulta: 20 Febrero 2014].
- ROBICSEK A., JACOBY G., HOOPER D. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. Boston, USA. Lancet Infectious Disease. 2006, vol. 6, n° 10, p. 629–40.

- SADER H. Use of Macrorestriction Analysis to Demonstrate Interhospital Spread of Multiresistant *Acinetobacter baumannii* in São Paulo, Brazil. Brasil. Clinical Infectious Diseases. 1996. vol. 23, nº 3, p. 631-634.
- SALAS J., CABEZAS T., ÁLVAREZ R., ROGADO C., DELGADO M., DÍEZ F. Infección/colonización nosocomial de las vías respiratorias por *Acinetobacter baumannii* en una planta de Medicina Interna. Madrid. Anales de Medicina Interna (Madrid). 2002, vol. 9, nº 10, p. 21-24.
- SALAZAR E., NIEVES B. *Acinetobacter* spp.: Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. Venezuela. 2005, vol. 25, nº 2, p. 178-191.
- SARANATAHANA R., SUDHAKARA P., KARTHIKAA R., KUMAR S., SHASHIKALAB P., KANUNGOB R., PRASHANTHA K. Multiple drug resistant carbapenemases producing *Acinetobacter baumannii* isolates harbours multiple R-plasmids. India. The Indian Journal of Medical Research, 2014, p. 262-270.
- SANDIUMENGE A., DIAZ E., RODRIGUEZ A., VIDAUR L., CANADELL L., OLONA M., RUE M., RELLO J. Impact of diversity of antibiotic use on the development of antimicrobial resistance. España. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006, vol. 57, nº 6, p. 1197–1204.
- SANDOVAL M., BARRAGÁN P., ROBLES A., VARELA R., ESCUDERO C., PÉREZ A., NAVA C., ARELLANO. A. Infecciones nosocomiales en la unidad de cuidados intensivos pediátricos en un hospital de tercer nivel. México. Rev. de Enfermedades Infecciosas Pediátricas. 2012, vol. 25. p. 92-98.

- SEIFERT H., DIJKSHOORN L., GERNER-SMIDT P., PELZER N., TJERNBERG I., VANEECHOUTTE M. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. Alemania. Journal of Clinical Microbiology. 1997, vol. 35, nº11, p. 2819–2825.
- SHEHATA A. Phenotypic and Genotypic Typing of Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* by Plasmid Profiles and Multiplex -PCR Typing. Arabia. Science Journal of Microbiology, 2012. doi: 10.7237/sjmb/274.
- SILVA J., AVELLO C., MATAMORO F., VILLAGRA L., ROJAS V., SANDOVAL L. Resistencia a antimicrobianos en diferentes biotipos de *Acinetobacter baumannii* aislados en el norte de Chile. Chile. Revista médica de Chile. 199, vol. 127, nº 8, p. 926-934.
- STANISICH V. Identification and analysis of plasmids at the genetic level. Methods Microbiol. 1998, vol. 21, 11-48.
- SUMI JAUREGUI, ADA.” Transferencia de plásmidos con resistencia a antibióticos en especies de *Enterococcus* provenientes del Mar de Lima”. Asesor: Debora Alvarado Iparraguirre. Tesis (Título). Universidad Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, E.A.P. de Ciencias Biológicas. Lima, Perú, 2008.
- SUNENSHINE R., WRIGHT M., MARAGAKIS L., ANTHONY D., SONG X., HEBDEN J., COSGROVE E., ANDERSON A., CARNELL J., JERNIGAN D., KLEINBAUM D., TRISH M. PERL, STANDIFORD H., SRINIVASAN A. Multidrug-resistant *Acinetobacter* Infection Mortality Rate and Length of

Hospitalization.USA. Emerging Infectious Diseases. 2007, vol. 13, nº 1, p. 97-103.

- SURESH G., GEETANJALI M., VIKRAM S., KRISHNARAO B. Plasmid-borne extended-spectrum β -lactamase in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. India. Printed in Great Britain. 2003, vol. 52, nº 12, p. 1125-1127.
- SURESH G., GEETANJALI M. *Acinetobacter baumannii*: An emerging pathogenic threat to public health. USA. World Journal of Clinical Infectious Diseases. 2013. vol. 3, nº 3, p. 25-36.
- TAFUR J. TORRES J., VILLEGAS M. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Infect. 2008, vol.12, n.3, p. 227-232.
- TALBOT G., BRADLEY J., EDWARDS J., GILBERT D., SCHELD M., BARTLETT J. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America.USA. Clinical Infectious Diseases. 2006, vol. 42, nº 5, p. 657-68.
- TOGNIM M., ANDRADE S., SILBERT S., GALES A., JONES R. y SADER H. Resistance trends of *Acinetobacter* spp. in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strains: five-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Brasil. International Journal of Infectious Diseases.2004, vol. 8, nº 5, p. 284-91.
- TOUATI A., BRASME L., BENALLAOUA S. First report of qnrB-producing *Enterobacter cloacae* and qnrA-producing *Acinetobacter baumannii* recovered

from Algerian hospitals. Argelia. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2008, vol. 60, n° 6, p. 287–290.

- TOWNER, K. Biology of *Acinetobacter* spp. In: Bergogne Berezin E, Joly-Guillou M., y Towner K. *Acinetobacter*: microbiology, epidemiology, infections, management. Boca Raton, CRC Press. 1996, p. 13-36.
- TURTON J., WOODFORD N., GLOVER J., YARDE S., KAUFMANN. PITT T., Identification of *Acinetobacter baumannii* by Detection of the blaOXA-51-like Carbapenemase Gene Intrinsic to This Species. Inglaterra. Journal of Clinical Microbiology. 2006, vol. 44, n° 8, p. 2974–76.
- UNAL S., GARCÍA J. Activity of meropenem and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. isolated in the MYSTIC Program, 2002–2004. Turquía. Diagnostic Microbiology and infectious disease. 2005, vol. 53, n° 4, p. 265–271.
- VALENCIA J., BENITES C., MATOS E., VALENCIA J., MARTINEZ L., PINEDO Y., RODRÍGUEZ O, HIDALGO C., ANGLES E. Resistencia a carbapenems de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* según método automatizado vitek 2 en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. En: XII Congreso Peruano de Enfermedades Infecciosas y Tropicales “Dra. Olga Palacios Agüero”. Perú, Lima, 8-11 septiembre 2011. R35.
- VALENTINE S., CONTRERAS D., TAN S., REAL L., CHU S., XU H. Phenotypic and Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Nosocomial Outbreaks in Los Angeles County, California. USA. Journal of clinical microbiology. 2008, vol. 46, n° 8, p. 2499–2507.

- VANEECHOUTTE M., ELAICHOUNI A., MAQUELIN K., CLAEYS G., VAN LIEDEKERKE H., LOUAGIE G., VERSCHRAEGEN A. DIJKSHOORN L. 1995. Comparison of arbitrarily primed polymerase chain reaction and cell envelope protein electrophoresis for analysis of *Acinetobacter baumannii* and *A. junii* outbreaks. Research in Microbiology. 1995, vol. 146, nº 6, p. 457-65.
- VANEGAS J. RONCANCIO G., JIMENEZ J. *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. Turquía. Revista CES Medicina. 2014. vol. 28, nº 2, p. 233-246.
- WENDT C., DIETZE B., DIETZ E., RÜDEN H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on Dry Surfaces. Berlin. Journal of Clinical Microbiology. 1997, vol. 35, nº 6, p. 1394–1397.
- WISPLINGHOFF H., SEIFERT H. Infektionen mit *Acinetobacter baumannii* beim Menschen – Epidemiologie und klinische Bedeutung. Berlin. Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift. 2014, vol. 11/12, p. 44–457.
- XU T., XIA W., RONG G., PAN S., HUANG P., GU G. 4-year surveillance of antimicrobial resistance patterns of *Acinetobacter baumannii* in a university-affiliated hospital in China. China. Journal of Thoracic Disease. 2013, vol. 5, nº 4, p. 506-512.
- ZARRILLI R., GIANNOULI M., TOMASONE F., TRIASSI M., TSAKRIS A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. Italia. Journal of Infection in Developing Countries. 2009, vol. 3, nº 5, p. 335-341.

- ZUÑIGA A., CHÁVEZ M., GÓMEZ R., CABRERA C., CORRAL R., LÓPEZ B. RELACIÓN entre virulencia y resistencia antimicrobiana en *Acinetobacter baumannii*. Colombia. Ciencia Biomédica. 2011, vol. 8, nº, 14, p. 148-162.


X. ANEXO

10.1. INFORME DE RESITENCIA ANTIMICROBIANA- SISTEMA MICRO SCAM

Informe de microbiología			
HOSPITAL NACIONAL GUILLERMO ALMENARA IRIGOYEN			
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA		SERVICIO DE MICROBIOLOGIA	
[REDACTED]		Muestra	06031221
		Estado	Final
ID del paciente	4701161ZPLR	Origen	ASPIRADO ENDOTRAQUEAL
Fecha de naci...		Fecha Esta...	11/03/2012
		Servicio ais	MEDICINA INTERNA 1
Méd resp		F. muestra	06/03/2012
		Méd sol	
HOSPITALIZADO		COLORACION GRAM	
Cel.Epit.menos de 10 x c		Leucocitos mayor de 25 x campo	
Bacilos gram neg 2+			
01	Acinetobacter baumannii/haemolyticus	Estado: Final	11/03/2012
01 Ac baumann/haem			
<u>Antimicrobiano</u>	<u>CIM</u>	<u>Interps</u>	
Amicacina	>32	R	
Amox/A Clav	>16/8		
Ampicilina	>16		
Aztreonam	>16		
Cefazolina	>16		
Cefepima	16	I	
Cefotaxima	>32	R	
Cefotaxima/A. Clavulánico	>4		
Cefoxitina	>16		
Ceftazidima	>16	R	
Ceftazidima/A. Clavulánico	>2		
Ceftriaxona	>32	R	
Cefuroxima	>16		
Ciprofloxacina	>2	R	
Ertapenem	>4		
Gentamicina	>8	R	
Levofloxacina	>4	R	
Meropenem	>8	R	
Tetraciclina	<=4	S	
Ticari/A Clav	>64	R	
Tobramicina	>8	R	
Trimet/Sulfa	>2/38	R	


10.2. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha: <input style="width: 90%;" type="text"/>	Nº: <input style="width: 90%;" type="text"/>
---	--



CASOS DE INFECCIÓN POR *Acinetobacter baumannii* en el Hospital Guillermo Almenara Irigoyen-ESSALUD-2012

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



A. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE:

> Iniciales del nombre del paciente:

> Edad:

> Sexo: F ☐ M ☐

B. DATOS GENERALES:

> Fecha de Ingreso (dd/mm/aa): Fecha de egreso (dd/mm/aa):

> Diagnóstico de Ingreso:

> Servicio de hospitalización al momento del estudio:

> Ingreso UCI:

> Procedimiento Invasivo:

<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Artrocentesis <input type="radio"/> Aspirado de médula ósea <input type="radio"/> Biopsia <input type="radio"/> Broncoscopia <input type="radio"/> Catéter venoso central <input type="radio"/> Catéter venoso periférico <input type="radio"/> Catéter intra arterial <input type="radio"/> Catéter urinario 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Colonoscopia <input type="radio"/> Endoscopia <input type="radio"/> Sonda nasogástrica <input type="radio"/> Toracocentesis <input type="radio"/> Ventilación mecánica (VM) <input type="radio"/> Tubo endotraqueal sin VM
--	---

Otros:

> Intervención quirúrgica:

Especificar:

> Enfermedad base:

Sin comorbilidad	Artritis reumatoide
Cáncer	Malformación arteriovenosa (MAC)
Gestación	Insuficiencia cardíaca crónica
Lupus eritematoso	EPOC
Insuficiencia o Cirrosis hepática	aborto
diabetes mellitus	droga
VIH + TBC	Hemía
TBC	Síndrome de Cushing
Insuficiencia renal crónica	Esquizofrenia
Desviación ventricular peritoneal	Trasplante de hígado
Cirugía	Síndrome de Guillain Barre
Hipertensión	Otro:

C. Datos de muestra:

Fecha de la toma:

- | | | | |
|---|----------------------|--|----------------------|
| <input type="radio"/> hemocultivo | | <input type="radio"/> coprocultivo | |
| <input type="radio"/> urocultivo | | <input type="radio"/> LCR | |
| <input type="radio"/> secreción respiratoria
(especificar) | <input type="text"/> | <input type="radio"/> Líquido biológico
(especificar) | <input type="text"/> |
| <input type="radio"/> secreción de herida
(especificar) | <input type="text"/> | <input type="radio"/> catéter (especificar) | <input type="text"/> |
| <input type="radio"/> Otros: <input type="text"/> | | | |

➤ Defunción Fecha (dd/mm/aa):

10.3. MEDIOS DE CULTIVOS

Agar Leed *Acinetobacter*

- Hidrolizado ácido de caseína 15.0 gr
- Peptona de Soya 5.0 gr
- Cloruro de sodio 5.0 gr
- Fructuosa 5.0 gr
- Sucrosa 5.0 gr
- D-Manitol 5.0 gr
- Phenylalanine 1.0 gr
- Citrato ferrico de amonio 0.4 gr
- Rojo de Fenol 0.02 gr
- Agar 15.0 gr
- Final pH 7.0±0.2

El hidrolizado ácido de caseína y peptona de soya proporcionan compuestos nitrogenados y vitaminas a los microorganismos. La sacarosa, fructosa y Manitol sirven como fuente de carbohidratos. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico. El aminoácido fenilalanina sufre la desaminación oxidativa catalizada por la enzima fenilalanina deaminasa (es una flavoproteína), para producir ácido fenilpirúvico y amoníaco que al reaccionar con los iones férricos del citrato de amonio férrico, resultando colonias marrón negro por especies como *Providencia sp.* El rojo fenol en el medio sirve como un indicador de pH. La acidez producida por la fermentación de los carbohidratos resulta en el viraje del medio a color amarillo, mientras que la alaclinización, a color malva.

SDS al 10 %

- SDS 1.0 g
- Agua bidestilada hasta 10 mL

Bromuro de etidio (1g/mL)

- Bromuro de etidio..... 1.0 g
- Agua destilada hasta 1 mL

Pesar el bromuro con guantes por ser una sustancia cancerígena, disolver y almacenar solución en un frasco oscuro envuelto con papel aluminio a temperatura ambiente.

Buffer TAE (Tris HCl – Acetato – EDTA)

- Trizma-base 4.84 g
- Ácido acético glacial 1.14 mL
- EDTA di Na 0.5 M, pH 8.0 2.0 mL
- Agua bidestilada hasta 1000 mL
- pH 8.0

Gel de Agarosa al 1%

- Agarosa 1.0 g
- TAE 1X.....100 mL

Buffer TE

- 10 mM Tris.Cl pH 8.0
- 1 mM EDTA pH 8.0

Pesar 1.0 gr de Tris-Base y 372 de EDTA disolver en 800 ml de agua destilada, ajustar el pH a 8 y completar el volumen a un litro con agua destilada. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Almacenar a 4°C.

Buffer TAE 50X

Pesar 24.2 gr de Tris-Base, 1.8612 gr de Na_2EDTA , $2\text{H}_2\text{O}$. Disolver en 57.1 ml de acido acético glacial, completar el volumen hasta 1 litro con agua destilada ($\text{H}_2\text{O}_{\text{dd}}$).

Ajusta el buffer a un pH 8.0. Esterilizar en autoclave 121°C por 15 min.

Luego diluir 1/100 hasta obtener la solución de 0.5 x